



**UJI ANTIBAKTERI DAN VISKOSITAS GEL FLAVONOID  
DAUN TEMBAKAU KASTURI TERHADAP PERTUMBUHAN  
BAKTERI *Aggregatibacter actinomycetemcomitans***

**SKRIPSI**

Oleh

**Qonita Nafilah Febi**

**NIM 161610101067**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2020**



**UJI ANTIBAKTERI DAN VISKOSITAS GEL FLAVONOID DAUN  
TEMPAKAU KASTURI TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI  
*Aggregatibacter actinomycetemcomitans***

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat  
untuk menyelesaikan Program Studi Kedokteran Gigi (S1)  
dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi

Oleh

**Qonita Nafilah Febi  
NIM 161610101067**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2020**

### PERSEMBAHAN

Dengan setulus hati skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Kedua orang tua saya, Ibu Rokhmah Wijayani dan Ayah Siswono yang selalu ada untuk saya, tidak pernah lelah mendoakan dan memberi cinta, kasih sayang, serta dukungan tiada henti disetiap langkah hidup saya, mendidik dan mendampingi saya untuk menjadi manusia shalihah, kuat, berakhlak, bermoral, dan berhati mulia;
2. Seluruh bapak dan ibu guru sejak taman kanak-kanak hingga dosen-dosen di perguruan tinggi yang telah mendidik, membimbing, dan memberikan ilmunya kepada saya hingga saat ini;
3. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

**MOTO**

“Boleh jadi kamu membenci sesuatu padahal ia amat baik bagimu, dan boleh jadi pula kamu menyukai sesuatu padahal ia amat buruk bagimu, Allah mengetahui sedang kamu tidak mengetahui.” (Al-Baqarah (2): 216)\*

“Allah tidak akan membebani seseorang melainkan sesuai dengan kadar kesanggupannya.” (Al-Baqarah (2): 286)\*

“Jangan memelihara segala yang menyiksa hati terlalu lama, sabar dan syukur adalah dua cara dari Allah agar manusia dapat berkata; semua akan baik-baik saja.” \*\*

---

\*) Al-Qur'an Cordoba *Special for Muslimah*. 2012. Bandung: PT Cordoba Internasional Indonesia.

\*\*\*) #HambaAllah. 2017. #CukupAllahSaja. Depok: Magenta Media

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Qonita Nafilah Febi

NIM : 161610101067

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Uji Antibakteri dan Viskositas Gel Flavonoid Daun Tembakau Kasturi terhadap Pertumbuhan Bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 07 Juli 2020

Yang menyatakan,

Qonita Nafilah Febi

NIM 161610101067

**SKRIPSI**

**UJI ANTIBAKTERI DAN VISKOSITAS GEL FLAVONOID DAUN  
TEBKAU KASTURI TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI  
*Aggregatibacter actinomycetemcomitans***

Oleh

**Qonita Nafilah Febi  
NIM 161610101067**

**Pembimbing**

Dosen Pembimbing Utama : Dr. drg. Banun Kusumawardani, M.Kes.  
Dosen Pembimbing Pendamping : drg. Yani Corvianindya Rahayu, M.KG.

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Uji Antibakteri dan Viskositas Gel Flavonoid Daun Tembakau Kasturi terhadap Pertumbuhan Bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*” ini telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada:

hari : Selasa  
tanggal : 07 Juli 2020  
tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Dosen Penguji Utama,

Dosen Penguji Anggota

Dr.drg. Atik Kurniawati, M.Kes.  
NIP. 197102041998022002

Dr. drg. Yuliana Mahdiyah D.A.,M.Kes.  
NIP. 197506182000122001

Dosen Pembimbing Utama

Dosen Pembimbing Pendamping

Dr. drg. Banun Kusumawardani, M.Kes.  
NIP. 197005091999032001

drg. Yani Corvianindya Rahayu, M.KG.  
NIP. 197308251998022001

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember,

drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes., Sp.Pro.  
NIP. 196901121996011001

## RINGKASAN

**Uji Antibakteri dan Viskositas Gel Flavonoid Daun Tembakau Kasturi terhadap Pertumbuhan Bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*;** Qonita Nafilah Febi; 161610101067, 93 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Periodontitis merupakan penyakit inflamasi kronis di jaringan rongga mulut yang disebabkan oleh enzim dan toksin yang dilepaskan oleh bakteri, salah satunya jenis bakteri gram-negatif anaerob, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* yang banyak ditemukan pada pasien periodontitis agresif atau *localized aggressive periodontitis* (LAP).

Pengobatan periodontitis yang paling penting adalah kontrol plak gigi dan kalkulus berupa *scaling* dan *root planing*, namun tindakan ini tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri sehingga sering disertai terapi antibiotik secara sistemik. Tidak ada antibiotik yang ideal dan efektif untuk semua patogen, dan penggunaan antibiotik yang berbeda secara bersamaan dapat meningkatkan efek samping medis. Oleh karena itu inovasi terapi antibiotik sistemik dapat dialihkan ke *local drug delivery system* untuk menghambat pertumbuhan bakteri yang langsung pada daerah target poket periodontal.

Gel metronidazol dan gel minosiklin sebagai sediaan gel yang paling sering digunakan dalam pengobatan *local drug delivery system* bersifat sintesis yang dapat mengakibatkan efek samping diantaranya rasa pusing, mual, mulut kering, dan rasa kecap logam. Pemanfaatan bahan alam sebagai bahan dasar obat jarang menimbulkan efek samping, termasuk salah satunya flavonoid dari daun tembakau Kasturi.

Ekstrak flavonoid daun tembakau Kasturi diperoleh menggunakan metode maserasi dengan pelarut metanol yang selanjutnya dicampurkan dalam formulasi gel dengan komposisi *Carbopol 974P*, *Triethanolamine* (TEA), *propylen glycol*, dan aquades dengan variasi konsentrasi 4, 2, 1, 0,5, dan 0,25 mg/ml. Selanjutnya gel akan diuji antibakteri dengan metode *disc diffusion* dengan melihat kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* pada media BHIA dengan waktu paparan 12, 24, 36, dan 48 jam. Gel flavonoid daun tembakau Kasturi juga diuji sifat stabilitasnya dengan uji viskositas untuk menyatakan besarnya tahanan sediaan.

Hasil penelitian menunjukkan adanya kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* oleh semua konsentrasi, dengan kemampuan yang paling baik dimiliki oleh gel flavonoid konsentrasi 4 mg/ml di semua waktu paparan dan gel flavonoid konsentrasi 2 mg/ml di waktu paparan 12 jam. Hal ini diduga karena kandungan bahan aktif flavonoid dalam konsentrasi tersebut memiliki kemampuan berdifusi ke dalam media yang paling baik. Aktivitas antibakteri gel flavonoid daun tembakau Kasturi dipengaruhi oleh kemampuan flavonoid dalam merusak dinding sel bakteri, merusak membran sitoplasma, menghambat sintesis asam nukleat, dan menghambat metabolisme energi sel bakteri.



Nilai viskositas sediaan gel yang dihasilkan menunjukkan bahwa gel flavonoid daun tembakau Kasturi di semua konsentrasi (4 mg/ml, 2 mg/ml, 1 mg/ml, 0,5 mg/ml, dan 0,25 mg/ml) memiliki viskositas sediaan yang lebih rendah sebesar 200 dPa.s dibandingkan dengan basis gel sebesar 300 dPa.s. Hal ini diduga karena keberadaan air (aquades) & kandungan bahan aktif flavonoid yang lebih banyak dibanding basis gel dapat menurunkan nilai viskositas, dan akan mempengaruhi pelepasan obat dari basis gel pada jaringan target lebih cepat.



## PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Antibakteri dan Viskositas Gel Flavonoid Daun Tembakau Kasturi terhadap Pertumbuhan Bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Kedua orang tua tercinta; Ibu Rokhmah Wijayani dan Ayah Siswono yang selalu ada untuk saya, tidak pernah lelah mendoakan dan memberi cinta, kasih sayang, serta dukungan tiada henti disetiap langkah hidup saya, mendidik dan mendampingi saya untuk menjadi manusia shalihah, kuat, berakhlak, bermoral, dan berhati mulia;
2. drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes., Sp.Pros., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
3. Dr. drg. Banun Kusumawardani, M.Kes, drg. Yani Corvianindya R., M.KG., dan drg. Dwi Merry Christmarini R., M.Kes selaku dosen pembimbing utama dan dosen pembimbing pendamping skripsi;
4. Dr. drg. Atik Kurniawati, M.Kes., dan Dr. drg. Yuliana Mahdiyah D.A., M.Kes., selaku dosen penguji utama dan dosen penguji anggota skripsi;
5. Kakak Fairuza Nafilah Sari, dan Adik Fathina Amalia Yasmin, kedua saudariku yang selalu ada dan menjadi penyemangat serta penghiburku;
6. Ibu Indria Cahyani, A.Md, Ibu Sholihatus Sallama, A.Md., staff Laboratorium Mikrobiologi FKG UNEJ dan Laboratorium Farmasetika FKG UNEJ yang telah membantu membimbing dan mengarahkan jalannya penelitian;
7. Seluruh staf Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember yang membantu dalam penyelesaian administrasi penulisan skripsi ini;

8. Teman-teman tim penelitian: Karelina, Nurhalimah, Mbak Agis, Malihatul, Deri, Mbak Larissa, Mbak Dea, Mas Fergy, dan Kristin. Terima kasih atas dukungan dan kerjasamanya yang luar biasa.
9. Teman-teman seperjuangan angkatan 2016 DEXTRA FKG Universitas Jember. Terima kasih atas kebersamaan, do'a, support, dan kebaikan kalian selama ini.
10. Teman bertukar pikiran sejak bangku sekolah Antafani, Lulu, Putri, Innab, Acha, Miko, dan psikopat lainnya, yang bisa memahami, menyenangkan, dan berbagi canda tawa dengan kerecehan yang selalu pas sesuai dengan porsinya serta saling mendukung dan mendoakan dalam kebaikan;
11. Teman-teman se-frekuensi Septi, Tete Syifa, Raquel, Okta, Adil, Anin.
12. Tutorial 7 Lutfi, Dhesya, Ulfa, Novia, Samahi, Innanisa, Amalia, Dina, Shobrina yang telah menjalin kebersamaan semasa perkuliahan S1, terimakasih atas segalanya.
13. Teman baik tercepatku Bela yang sudi mendengar keluh kesah dan senantiasa saling mendoakan untuk kebaikan, dengan waktu perkenalan tersingkat selama 45 hari bersama teman-teman 324 lainnya, terimakasih banyak telah hadir dan memberi banyak kebaikan maupun pelajaran untukku.
14. Semua pihak yang telah membantu kegiatan penelitian; atas perhatian dan bantuan yang telah diberikan hingga tersusunnya skripsi ini.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pendidikan khususnya di bidang kesehatan serta menjadi upaya dalam meningkatkan mutu kesehatan masyarakat.

Jember, 27 Mei 2020

Penulis

DAFTAR ISI

	halaman
HALAMAN JUDUL .....	i
PERSEMBAHAN .....	iii
MOTO.....	iv
PERNYATAAN.....	v
PENGESAHAN.....	vii
RINGKASAN .....	viii
PRAKATA.....	x
DAFTAR ISI .....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR TABEL .....	xv
DAFTAR LAMPIRAN .....	xvi
<b>BAB 1 PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian .....	5
1.4 Manfaat Penelitian .....	6
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>7</b>
2.1 Tembakau .....	7
2.2 Tembakau Kasturi .....	9
2.3 Flavonoid .....	11
2.4 Quercetin .....	12
2.5 Viskositas .....	13
2.6 Bakteri <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> .....	14
2.7 Uji Daya Hambat Antibakteri .....	19
2.8 Kerangka Konsep.....	20
2.9 Hipotesis.....	21
<b>BAB 3 METODE PENELITIAN .....</b>	<b>22</b>
3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian.....	22
3.2 Variabel Penelitian.....	22
3.3 Besar Sampel .....	23

3.4	Pengelompokan Sampel Penelitian .....	23
3.5	Definisi Operasional Variabel .....	25
3.6	Alat dan Bahan Penelitian .....	26
3.7	Tempat Penelitian .....	29
3.8	Waktu Penelitian .....	29
3.9	Prosedur Penelitian .....	29
3.10	Analisis Data .....	35
3.11	Alur Penelitian .....	36
<b>BAB 4</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>37</b>
4.1	Hasil Penelitian dan Analisis Data .....	37
4.2	Pembahasan .....	44
<b>BAB 5</b>	<b>KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>50</b>
5.1	Kesimpulan .....	50
5.2	Saran .....	50
	<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>51</b>
	<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>59</b>

DAFTAR GAMBAR

	halaman
Gambar 2.1 Tanaman tembakau dan klasifikasi daun tembakau berdasarkan letak daun pada batang .....	8
Gambar 2.2 Tembakau Kasturi 1 dan 2.....	9
Gambar 2.3 Struktur Kimia Flavonoid.....	11
Gambar 2.4 Struktur Kimia Quercetin .....	12
Gambar 2.5 Hasil pewarnaan Gram bakteri <i>A. actinomycetemcomitans</i> .....	15
Gambar 2.6 Struktur dinding sel bakteri gram negatif .....	16
Gambar 2.7 Grafik pertumbuhan bakteri patogen periodontal dengan masa inkubasi 48 jam .....	17
Gambar 2.8 Ekspor leukotoksin <i>A. actinomycetemcomitans</i> yang diekspresikan ke membran luar bakteri .....	17
Gambar 2.9 Proses leukotoksin (LtxA) menginduksi kematian sel pada makrofag pasien periodontitis .....	18
Gambar 2.10 Kerangka konsep .....	20
Gambar 3.1 Viskometer <i>brookfield</i> .....	28
Gambar 3.2 Pengukuran zona hambat bakteri.....	35
Gambar 3.3 Alur penelitian .....	36
Gambar 4.1 Sampel zona hambat gel flavonoid daun tembakau Kasturi pada pengamatan jam ke-24.....	37

**DAFTAR TABEL**

	halaman
Tabel 2.1 Karakteristik Tembakau Kasturi 1 dan Kasturi 2.....	10
Tabel 4.1 Diameter zona hambat pertumbuhan <i>A. actinomycetemcomitans</i> berdasarkan waktu paparan .....	37
Tabel 4.2 Diameter zona hambat pertumbuhan <i>A. actinomycetemcomitans</i> berdasarkan kelompok konsentrasi .....	38
Tabel 4.3 Aktivitas antibakteri gel flavonoid daun tembakau Kasturi terhadap <i>A.actinomycetemcomitans</i> berdasarkan klasifikasi Rauha <i>et al.</i> , (2000) .....	38
Tabel 4.4 Nilai viskositas gel flavonoid terhadap basis gel .....	44

DAFTAR LAMPIRAN

	halaman
Lampiran 1 Surat Izin Penelitian .....	
<b>Error! Bookmark not defined.</b>	
Lampiran 2 <i>Ethical Clearance</i> Penelitian .....	63
Lampiran 3 Surat Identifikasi Tanaman Tembakau Kasturi .....	64
Lampiran 4 Surat Identifikasi Bakteri <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> .....	65
Lampiran 5 Perhitungan Pengenceran Ekstrak Flavonoid Daun Tembakau Kasturi.....	66
Lampiran 6 Alat dan Bahan Penelitian .....	70
Lampiran 7 Dokumentasi Prosedur Penelitian .....	72
Lampiran 8 Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Bakteri <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> .....	77
Lampiran 9 Hasil Uji Statistika Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> .....	81



## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Periodontitis merupakan penyakit inflamasi kronis di jaringan rongga mulut yang paling umum terjadi (EFP dan EOPID, 2018). Periodontitis ditandai dengan peradangan jaringan periodontal, kerusakan progresif ligamen periodontal dan tulang alveolar bersamaan dengan pembentukan poket periodontal dan resesi gingiva. Hal ini disebabkan oleh enzim dan toksin yang dilepaskan oleh bakteri patogen periodontal (Jain *et al.*, 2008).

Bakteri patogen periodontal berjenis gram-negatif anaerob banyak ditemukan pada pasien periodontitis agresif atau sekarang lebih dikenal dengan *localized aggressive periodontitis* (LAP) (Malik *et al.*, 2015). Salah satu jenis bakteri gram-negatif anaerob, ialah *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (selanjutnya disebut *A. actinomycetemcomitans*). Bakteri tersebut adalah bakteri coccobasilus anaerob gram negatif yang merupakan bakteri dominan yang ditemukan pada *Gingival Crevicular Fluid* (GCF) pasien periodontitis (Widodo *et al.*, 2014).

Pengobatan pasien dengan periodontitis yang paling penting adalah mengendalikan peradangan dengan kontrol plak gigi dan kalkulus untuk mengurangi mikroorganisme patogen berupa *scaling* dan *root planing*, namun tindakan ini tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri sehingga sering disertai terapi antibiotik secara sistemik (Mlachkova dan Popova, 2014). Karena penyebab penyakit periodontal adalah berbagai macam bakteri, maka tidak ada antibiotik yang ideal dan efektif untuk semua patogen, dan penggunaan antibiotik yang berbeda secara bersamaan dapat meningkatkan efek samping medis diantaranya pusing, jantung berdebar, serta gangguan gastrointestinal (Rams *et al.*, 2014 ; Krismariono, 2009). *Local drug delivery system*, atau pemberian terapi antibakteri secara lokal mempunyai keuntungan dibandingkan secara sistemik, antara lain pengurangan obat yang diresepkan, peningkatan konsentrasi obat dalam jaringan target, pengurangan efek samping obat, dan pengurangan frekuensi

penggunaan obat (Medlicott *et al.*, 1994). Penggunaan obat lokal sediaan gel umum digunakan, dengan jenis paling sering diaplikasikan ialah gel metronidazol dan gel minosiklin di area subgingiva (Zulfa dan Mustaqimah, 2011 ; Zingale *et al.*, 2012).

Penggunaan gel berbahan dasar kimia seperti gel metronidazol yang bersifat sintetis dapat mengakibatkan efek samping diantaranya rasa pusing, mual, mulut kering, dan rasa kecap logam (Zingale *et al.*, 2012 ; Gunawan, 2007). Arpimed, sebagai salah satu perusahaan obat-obatan yang memproduksi gel metronidazol dari Armenia melaporkan efek samping yang paling umum dirasakan setelah penggunaan produk *metronidazole dental gel* adalah rasa pahit dan *local tenderness*. Pemanfaatan bahan alam sebagai bahan dasar obat jarang menimbulkan efek samping dibandingkan dengan bahan sintetis (Sabir, 2005). Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa fenol alam terbesar yang terdapat pada jaringan tanaman. Flavonoid sangat aman, hemat biaya, dan dapat mengurangi efek samping untuk dijadikan bahan dasar pengobatan karena mempunyai berbagai aktivitas biologis diantaranya antibakteri, antioksidan, antiinflamasi, hingga antikarsinogenik (Redha, 2010). Flavonoid terbukti dapat meningkatkan aktivitas antioksidan saliva dan menghambat produksi prostaglandin sehingga mampu menghambat progresi penyakit periodontal (Petti dan Scully, 2009). Wu *et al.*, (2008) juga menyatakan senyawa quercetin (3,3,4,5,7-pentahydroxyflavone) dan apigenin (4,5,7-trihydroxyflavone) adalah dua jenis flavonoid yang representatif dalam aktivitas antibakteri dengan bekerja pada beberapa target seluler. Oleh karena berbagai manfaat aktivitas biologis dari flavonoid, semakin menarik untuk utilitas potensialnya sebagai senyawa aktif gel mukoadhesif herbal pengganti-antibiotik konvensional dalam terapi ajuvan pengobatan *local drug delivery* pasca *scaling* dan *root planing* sediaan gel.

Fraksi bioaktif yang akan digunakan adalah flavonoid daun tembakau Kasturi yang berpotensi sebagai agen antibakteri patogen periodontal. Penelitian oleh Sharma *et al.*, (2016) menyatakan bahwa berbagai ekstrak dari daun tembakau Kasturi (*Nicotiana tabacum*), termasuk ekstrak metanol yang telah diidentifikasi mengandung banyak flavonoid memiliki aktivitas antibakteri

terhadap bakteri penyebab *microbial disease* seperti *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Penelitian lain dilakukan oleh Putri *et al.*, (2014) mengenai uji antimikroba ekstrak kasar daun tembakau Kasturi terhadap pertumbuhan mikroba patogen rongga mulut menunjukkan bahwa ekstrak kasar daun tembakau Kasturi baik kualitas rendah atau koseran maupun kualitas baik, sama-sama memiliki daya antimikroba yang baik. Oleh karena itu, pemanfaatan bahan alami berupa flavonoid daun tembakau Kasturi dapat dijadikan inovasi untuk utilitas potensialnya sebagai pengganti-antibiotik konvensional dalam terapi ajuvan pengobatan *local drug delivery* pasca *scaling* dan *root planing* sediaan gel.

Tembakau Kasturi yang merupakan salah satu komoditi perkebunan utama di Jawa Timur dengan luas area di kabupaten Jember seluas 9.791 hektar dan produksi sebesar 12.487 ton di tahun 2012 (Dinas Perkebunan Provinsi Jawa Timur, 2013), dikelola secara krosok berupa lembaran-lembaran daun (*leaf type*) pada musim kemarau atau dikenal dengan istilah *Voor Oogst* (VO) dengan cara pengeringan menggunakan bantuan sinar matahari langsung (*sun cured*) (Nitasari, 2010). Tembakau ini masih fokus digunakan sebagai bahan campuran untuk rokok keretek (sumber: <http://balittas.litbang.pertanian.go.id>), sementara pemanfaatan dalam bidang medis belum banyak tergali. Pemanfaatan daun tembakau Kasturi kualitas rendah (koseran), yakni daun yang diambil dari bagian bawah tanaman, berwarna kuning kecoklatan, dan atau berlubang, juga tidak banyak dilakukan sehingga hanya menjadi limbah yang dapat mencemari lingkungan. Oleh karena itu, kami ingin memanfaatkan daun tembakau Kasturi kualitas koseran yang sebelumnya sering dianggap sebagai limbah karena tidak memiliki nilai jual tinggi menjadi agen biofarmasetika untuk pengobatan periodontal.

Penelitian oleh Putri *et al.*, (2014) menunjukkan bahwa daun tembakau Kasturi kualitas baik sebanyak 100 g menghasilkan flavonoid sebanyak 0,592 gram, sedangkan daun tembakau Kasturi koseran menghasilkan flavonoid sebanyak 0,517 gram yang menunjukkan tidak adanya perbedaan signifikan mengenai jumlah kandungan flavonoid daun tembakau Kasturi kualitas bagus maupun koseran. Konsentrasi nikotin yang tersisa dalam flavonoid daun tembakau

Kasturi kualitas bagus dan koseran adalah sama, kurang dari 1%. Konsentrasi rendah (40 µg/ml) flavonoid daun tembakau Kasturi koseran memiliki daya antimikroba sama kuat dengan flavonoid daun tembakau Kasturi kualitas bagus, dan kedua flavonoid tersebut sama-sama memiliki biokompatibilitas yang sangat baik terhadap sel fibroblas gingiva manusia. Daun tembakau dengan genus *Nicotiana* memiliki berbagai komponen kimia bioaktif salah satunya ialah flavonoid. Flavonoid terutama quercetin dan apigenin, telah diketahui berpotensi sebagai agen antibakteri terhadap berbagai mikroorganisme patogen (Panche *et al.*, 2016). Pemanfaatan flavonoid dari daun tembakau Kasturi inilah yang akan menjadi pengganti-antibiotik konvensional dalam terapi ajuvan pengobatan periodontitis berupa *local drug delivery* sediaan gel.

Obat-obatan sediaan gel, sifat stabilitas ketahanannya dapat diuji salah satunya dengan uji viskositas untuk menyatakan besarnya tahanan sediaan untuk mengalir (Ashar, 2016) dan tetap berada pada daerah atau jaringan target. Pengujian viskositas bertujuan untuk menentukan nilai kekentalan suatu zat (Ashar, 2016). Gel flavonoid dengan viskositas rendah diduga akan meningkatkan kemampuan pelepasan obat dari basis gel. Hal ini sesuai dengan penelitian Aslani *et al.*, (2013) yang menyatakan bahwa peningkatan viskositas akan menurunkan kecepatan pelepasan obat. Dengan meningkatnya kemampuan pelepasan obat, diharapkan dapat memaksimalkan kemampuan gel flavonoid dalam aktivitasnya sebagai antibakteri patogen periodontal.

Penelitian mengenai aktivitas antibakteri gel flavonoid daun tembakau Kasturi telah dilakukan sebelumnya pada bakteri *Porphyromonas gingivalis* dan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dengan konsentrasi 0,64 mg/ml, 0,32 mg/ml, 0,16 mg/ml, 0,08 mg/ml, 0,04 mg/ml, dan 0,02 mg/ml dengan waktu paparan 12 jam, 24 jam, 36 jam dan 48 jam oleh Aprilia (2019). Penelitian tersebut menghasilkan aktivitas antibakteri gel flavonoid daun tembakau Kasturi pada rentang konsentrasi 0,02 mg/ml sampai 0,64 mg/ml terhadap bakteri *A. actinomycetemcomitans* menurut klasifikasi Rauha *et al.*, (2000) bersifat sedang di konsentrasi 0,64 mg/ml pada waktu paparan 12 jam dengan penambahan diameter zona hambat  $3,1 \pm 2,02$  mm. Sedangkan terhadap bakteri *P.gingivalis*

bersifat baik dikonsentrasi 0,64 mg/ml pada waktu paparan 12 jam dengan pertambahan diameter zona hambat  $4,22 \pm 1,88$  mm, konsentrasi 0,64 mg/ml pada waktu paparan 24 jam dengan pertambahan diameter zona hambat  $4,44 \pm 3,39$  mm, dan konsentrasi 0,32 mg/ml pada waktu paparan 24 jam dengan pertambahan diameter zona hambat  $4,94 \pm 3,74$  mm. Selanjutnya, kami ingin melakukan penelitian mengenai aktivitas antibakteri gel flavonoid daun tembakau Kasturi pada bakteri *A. actinomycescomitans* dengan konsentrasi yang ditingkatkan menjadi 4 mg/ml, 2 mg/ml, 1 mg/ml, 0,5 mg/ml, dan 0,25 mg/ml, untuk mengetahui adakah peningkatan aktivitas antibakteri gel flavonoid daun tembakau Kasturi terhadap bakteri *A. actinomycescomitans* sehingga aktivitas antibakteri gel flavonoid dapat tergolong bersifat baik menurut klasifikasi Rauha *et al.*, (2000), serta uji viskositas gel flavonoid untuk menyatakan besarnya tahanan sediaan.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, didapatkan rumusan masalah adalah sebagai berikut:

- 1.2.1 Bagaimana pengaruh gel flavonoid daun tembakau Kasturi terhadap aktivitas pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycescomitans*?
- 1.2.2 Berapa nilai viskositas sediaan gel flavonoid daun tembakau Kasturi sebagai nilai tahanan sediaan?

## 1.3 Tujuan Penelitian

- 1.3.1 Untuk mengetahui pengaruh gel flavonoid daun tembakau Kasturi terhadap aktivitas pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycescomitans*
- 1.3.2 Untuk mengetahui nilai viskositas gel flavonoid daun tembakau Kasturi sebagai nilai tahanan sediaan

#### 1.4 Manfaat Penelitian

- 1.4.1 Memberi pengetahuan mengenai pengaruh gel flavonoid daun tembakau Kasturi terhadap aktivitas pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*
- 1.4.2 Memberi pengetahuan mengenai besarnya viskositas gel flavonoid daun tembakau Kasturi.



## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tembakau

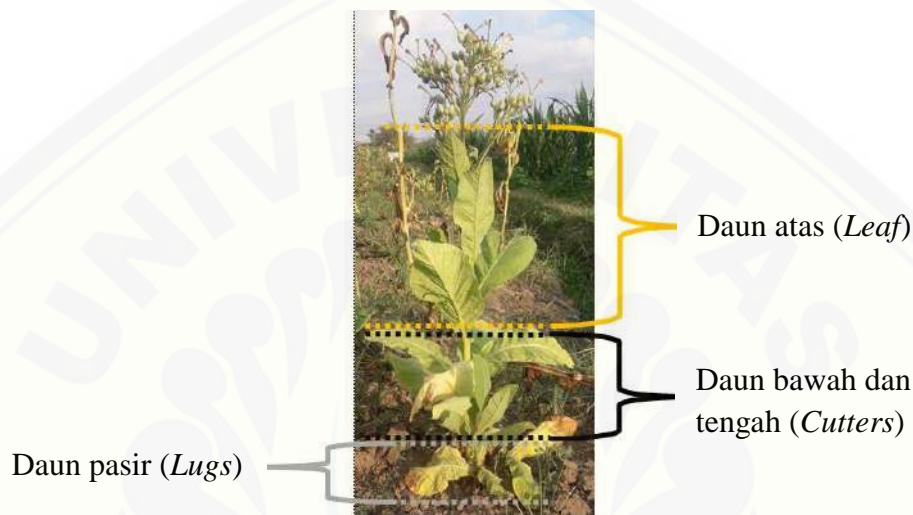
Tembakau merupakan salah satu komoditi perkebunan utama di Jawa Timur yang memiliki peran penting dalam pembangunan ekonomi regional maupun nasional (Dinas Perkebunan Provinsi Jawa Timur, 2013). Tembakau merupakan tanaman perkebunan yang tidak termasuk dalam kelompok tanaman pangan, yang berdasarkan Surat Keterangan Identifikasi UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi No. 1304/IPH.6/HM/IX/2015, menerangkan tanaman tembakau diklasifikasikan sebagai berikut:

Divisio	: <i>Magnoliophyta</i>
Klas	: <i>Magnoliopsida</i>
Sub Klas	: <i>Asteridae</i>
Ordo	: <i>Solanales</i>
Famili	: <i>Solanaceae</i>
Sub Famili	: <i>Nicotianae</i>
Genus	: <i>Nicotianae</i>
Spesies	: <i>Nicotiana tabacum</i> L.

Tanaman tembakau termasuk famili *solanaceae* bersama dengan tanaman lainnya, seperti: *Solanum tuberosum*, *Solanum melongena*, dan *Solanum lycopersicum*. Tanaman tembakau secara umum dapat tumbuh dengan baik pada kisaran suhu 22°C – 33°C (Kurniawan, 2015).

Secara umum, morfologi akar tanaman tembakau adalah akar tunggang, dengan panjang dapat mencapai 50-75 cm. Pada tanaman tembakau juga dapat ditemukan akar serabut dan bulu-bulu akar yang berfungsi sebagai pengganti akar tunggang. Banyak sedikitnya komposisi akar tunggang dan akar serabut tergantung dari spesies tembakau yang ditanam. Batang yang dimiliki tanaman tembakau berbentuk agak bulat dengan diameter  $\pm 5$  cm, bertekstur agak lunak tetapi kuat, dan semakin ke ujung atas diameternya semakin kecil. Daun tanaman tembakau memiliki bentuk yang bervariasi, ada ovalis, oblungus, orbicularis, dan ovatus, bergantung dari jenis tanaman tembakaunya. Ketebalan daun juga

bervariasi bergantung dari jenis daun, varietas yang ditanam, kesuburan tanah, dan pengelolaannya (Kurniawan, 2015). Daun tanaman tembakau secara umum diklasifikasikan berdasarkan letaknya pada batang seperti dapat dilihat pada Gambar 2.1, yang dimulai dari urutan bawah ke atas, yaitu: daun pasir (*zand blad/lugs*), kaki (*voet blad/cutters*), tengah (*midden blad/leaf*), dan atas (*top blad/tips*) (Susilowati, 2006).



**Gambar 2.1** Tanaman tembakau dan klasifikasi daun tembakau berdasarkan letak daun pada batang

Pemanfaatan tembakau sebagai bahan biofarmasetika masih belum tergalikan karena sampai saat ini tembakau masih fokus digunakan sebagai bahan baku rokok. Pemanfaatan daun tembakau sebagai bahan nonrokok yang sudah dilakukan adalah sebagai penghasil protein bahan baku obat, antibodi, dan antivirus (Rizki, 2016). Salah satu bahan aktif yang terkandung dalam tembakau yang dapat digunakan sebagai antibakteri dan antijamur adalah flavonoid. Ru, *et al.*, (2012) dan Docheva, *et al.*, (2014) menyatakan bahwa flavonoid pada daun tembakau efektif pada *scavenging* radikal bebas dan memiliki potensi menjadi antioksidan kuat. Yu, *et al.*, (2012) juga menyatakan ekstrak tembakau bebas nikotin terbukti sebagai agen kemopreventif pada tahap prakanker.



## 2.2 Tembakau Kasturi

Tembakau Kasturi merupakan salah satu tipe tanaman tembakau yang diolah secara krosok (*leaf type*) atau lembaran-lembaran daun dan dibudidayakan pada musim kemarau atau dikenal dengan istilah *Voor Oogst* (VO) dengan pengeringan menggunakan sinar matahari langsung (*sun cured*) (Nitasari, 2010). Tembakau Kasturi biasa dibudidayakan di daerah dataran rendah dengan topografi datar. Tembakau Kasturi memiliki ciri khas yaitu aroma seperti coklat. Pemanfaatan tembakau Kasturi adalah dapat digunakan sebagai bahan campuran (*blending*) untuk rokok keretek, pestisida nabati, pupuk organik, hingga parfum (Rizki, 2016).

*Indonesia Sweetener and Fiber Crops Research Institute* (ISFCRI) pada tahun 2007, telah mengesahkan varietas baru dari tembakau Kasturi (Pratami, 2018). Berdasarkan SK Mentan No: 132/Kpts/SR.120/2/2007 dan No: 133/Kpts/SR.120/2/2007, varietas baru tembakau Kasturi terdiri atas Kasturi 1 dan Kasturi 2 (Gambar 2.2). Kedua jenis tembakau tersebut merupakan jenis tembakau Kasturi yang umumnya dibudidayakan di Kabupaten Jember dengan karakteristik kedua jenis tersebut akan dijelaskan pada Tabel 2.1.



**Gambar 2.2** Tembakau Kasturi 1 dan 2 (Djajadi, 2015)

**Tabel 2.1** Karakteristik tembakau Kasturi 1 dan Kasturi 2

<b>Karakteristik</b>	<b>Kasturi 1</b>	<b>Kasturi 2</b>
Asal varietas	Seleksi massa positif Kasturi Mawar, Jember	Seleksi massa positif Kasturi Ledokombo
Bentuk daun	Lonjong	Lonjong
Ujung daun	Meruncing	Meruncing
Tepi daun	Rata	Licin
Permukaan daun	Rata	Rata
<i>Phylotaxi</i>	2/5, putar ke kiri	2/5, putar ke kiri
Indeks daun	0,486	0,529
Jumlah daun	16-19 lembar	17-19 lembar
Produksi	1,75 ton krosok/ha	1,75 ton krosok/ha
Indeks mutu	81,75 + 0,98	82,40 + 1,03
Kadar nikoton	3,21 + 0,08	3,54 + 0,04

(<http://balittas.litbang.pertanian.go.id>)

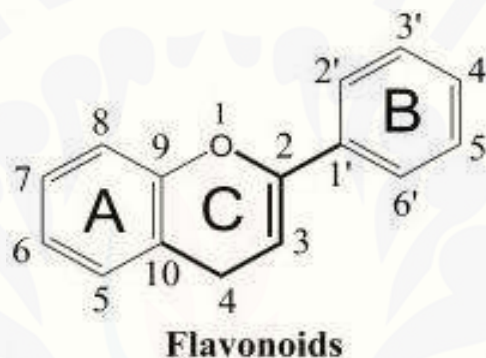
Tembakau ini masih fokus digunakan sebagai bahan campuran untuk rokok keretek di Indonesia (sumber: <http://balittas.litbang.pertanian.go.id>), dengan pemanfaatan dalam bidang medis belum banyak tergali seperti jenis tembakau pada umumnya. Namun beberapa penelitian terkait sifat biofarmasetika tanaman ini mulai banyak dilakukan.

Penelitian sebelumnya oleh Putri, (2014) mengenai uji aktivitas antimikroba ekstrak etanol daun tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis*, serta terhadap jamur *Candida albicans* selama 24 dan 48 jam menunjukkan memiliki daya antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis* pada konsentrasi 80% serta memiliki daya antijamur terhadap *Candida albicans* pada konsentrasi 100%.

Penelitian selanjutnya oleh Rizki (2016) menguji sitotoksitas ekstrak flavonoid rendah nikotin limbah daun tembakau Kasturi dengan konsentrasi 1,25 µg/ml, 2,5 µg/ml, 80 µg/ml, dan 320 µg/ml dengan melihat viabilitas sel fibroblas gingiva manusia menggunakan metode *MTT assay*. Viabilitas sel dan proliferasi sel yang ditunjukkan dalam penelitian ini akibat pengaruh flavonoid menunjukkan tidak adanya efek toksik pada sel fibroblas gingiva manusia. Hal ini ditunjukkan dengan tidak adanya penghambatan pertumbuhan sel, yang menyebabkan peningkatan persentase viabilitas sel pada kenaikan setiap konsentrasi.

### 2.3 Flavonoid

Flavonoid berasal dari kata flavon atau fenil 2 kromosom yang mempunyai kerangka dasar  $\gamma$  piron, adalah golongan senyawa polifenol dengan kerangka dasar difenilpropana C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> yang dapat dilihat pada Gambar 2.3 (Rizki, 2016 ; Farhadi, *et al.*, 2018). Flavonoid terdiri atas satu cincin aromatik A, satu cincin aromatik B, dan cincin tengah heterosiklik. Cincin tengah flavonoid mengandung oksigen, yang mana bentuk teroksidasi dari cincin tersebut merupakan dasar pembagian sub kelompok flavonoid dan pembagian perbedaan sifat kimiawi flavonoid (Redha, 2010).



**Gambar 2.3** Struktur Kimia Flavonoid (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>) (Tarahovsky, *et al.*, 2014)

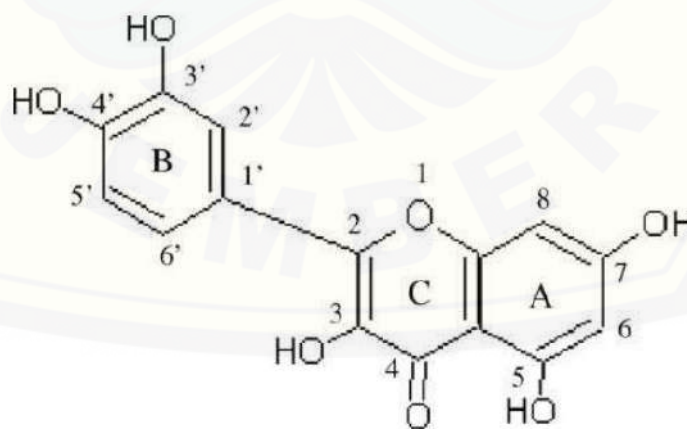
Flavonoid banyak ditemukan dalam sel fotosintesis, oleh karena itu flavonoid banyak ditemui pada tumbuhan. Flavonoid dapat ditemukan dalam buah, sayuran, kacang-kacangan, biji-bijian, batang, bunga, propolis dan madu, dan kandungan yang umum ada dalam makanan manusia. Fungsi flavonoid pada bunga adalah untuk memberikan warna yang menarik bagi penyerbuk tanaman. Pada daun, senyawa ini dapat meningkatkan kelangsungan hidup fisiologis tanaman, melindungi tanaman dari jamur, dan radiasi UV-B (Cushnie dan Lamb, 2005).

Flavonoid sebagai subjek penelitian medis, memiliki berbagai sifat yang diperlukan dalam pengobatan. Mereka telah dilaporkan memiliki banyak sifat seperti antiinflamasi, memiliki aktivitas estrogenik, penghambatan enzim, antialergi, aktivitas antioksidan, dan antimikroba (Cushnie dan Lamb, 2005).

Flavonoid juga mempunyai aktivitas antibakteri, karena mempunyai kemampuan berinteraksi dengan DNA bakteri dan menghambat fungsi membran sitoplasma bakteri dengan mengurangi fluiditas dari membran dalam dan membran luar sel bakteri. Kemudian akan terjadi kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, lisosom, dan membran tidak berfungsi sebagaimana mestinya, termasuk untuk melakukan perlekatan dengan substrat (Rizki, 2016 ; Sabir, 2003).

## 2.4 Quercetin

Quercetin atau 3,3',4,5,7-*pentahydroxy flavone* atau  $C_{15}H_{10}O_7$  adalah salah satu flavonoid asli yang paling umum ada dalam bentuk glikosidik seperti rutin (quercetin-3-O-rutinoside). Quercetin tersusun atas 2 cincin benzena yang dihubungkan oleh 3 atom karbon yang dapat membentuk cincin ketiga. Adanya cincin benzena ini menyebabkan quercetin bersifat nonpolar, namun adanya gugus OH menyebabkan quercetin bersifat polar, oleh karena itu quercetin adalah senyawa semi polar sehingga diperlukan pelarut yang semipolar juga untuk mengekstrak bahan aktif tersebut menurut tingkat kepolarannya yang berbeda (Kristiani dan Halim, 2014).



**Gambar 2.4** Struktur Kimia Quercetin ( $C_{15}H_{10}O_7$ ) (Kristiani & Halim, 2014)

Quercetin adalah flavonoid paling berlimpah yang ada dalam tumbuh-tumbuhan dan makanan, serta mewakili sekitar 95% dari total flavonoid yang dikonsumsi manusia. Molekul ini adalah salah satu flavonoid yang paling banyak diteliti karena aktivitas biologisnya seperti antivirus, antimikroba, antioksidan, antitrombotik, dan *antitumoral* (Junior *et al.*, 2018). Penelitian oleh Junior *et al.*, (2018) juga membuktikan adanya aktivitas antimikroba dan antibiofilm quercetin terhadap isolat klinis *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus saprophyticus*. Pada penelitian oleh Rauha *et al.*, (2000) telah dilakukan studi antibakteri dari quercetin terhadap strain bakteri menggunakan metode *disc diffusion* atau agar, yang menghasilkan adanya aktivitas antibakteri pada konsentrasi 500 µg/ml. Kemudian, Hirai *et al.*, (2010) menganalisis aktivitas quercetin dalam kombinasi dengan antimikroba lain yang menghasilkan quercetin dalam konsentrasi 50 µg/ml, meningkatkan aktivitas antibakteri *in vitro* ampisilin (0,5 µg/ml), eritromisin (8 µg/ml), gentamisin (0,5 µg/ml), oksasilin (0,8 µg/ml) dan vankomisin (0,125 µg/ml). Lee *et al.*, (2013) mengevaluasi kemampuan quercetin untuk menghambat pembentukan biofilm melalui metode pewarnaan kristal ungu dan memverifikasi 80% penghambatan pada biofilm bakteri pada konsentrasi 50 µg/ml atau setara 0,05 mg/ml.

## 2.5 Viskositas

Viskositas merupakan salah satu sifat pokok dari semua jenis fluida (cairan yang mengalir) yang menjadi ukuran kekentalan dari suatu fluida. Ketika fluida mengalir, fluida tersebut memiliki hambatan dalam untuk mengalir. Viskositas merupakan ukuran hambatan untuk mengalir. Pengukuran viskositas dapat dilakukan menggunakan viskometer (Rosalina, 2017). Makin tinggi nilai viskositas maka makin besar tahanannya.

Viskositas juga merupakan salah satu parameter kualitas suatu sediaan topikal. Dalam sediaan gel, viskositas bertanggung jawab dalam sifat dan sangat berperan penting untuk meningkatkan stabilitas gel. Nilai viskositas suatu sediaan gel bergantung dari jumlah konsentrasi *gelling agent* yang ditambahkan, sehingga

dalam penelitian perlu melihat pengaruh penambahan konsentrasi *gelling agent* terhadap sifat fisis dan stabilitas sediaan yang juga dapat mempengaruhi laju pelepasan obat (Ande, 2014 ; Aslani *et al.*, 2013).

Aslani *et al.*, (2013) melakukan penelitian terkait dengan viskositas dari gel ekstrak tanaman oak (*Quercus brantii L.*) dan gel ekstrak ketumbar (*Coriandrum sativum L.*) dalam pengobatan periodontal *drug delivery system* menggunakan viskometer *Brookfield DV-III* dengan spindle nomor 7 dan kecepatan 100 rpm. Hasilnya menunjukkan bahwa gel yang mengandung lebih banyak carbopol 940 sebagai bahan atau basis gel memiliki nilai viskositas lebih tinggi dibandingkan dengan gel yang mengandung carbopol lebih sedikit dan bahan aktif. Viskositas akan mempengaruhi laju pelepasan obat. Semakin meningkat viskositas, akan menurunkan laju pelepasan (*drug release*) obat. Sebaliknya penurunan viskositas akan meningkatkan laju pelepasan obat. Perbandingan nilai viskositas suatu sediaan obat gel dengan basisnya yang lebih rendah, akan menunjukkan kemampuan pelepasan obat yang lebih baik.

## 2.6 Bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

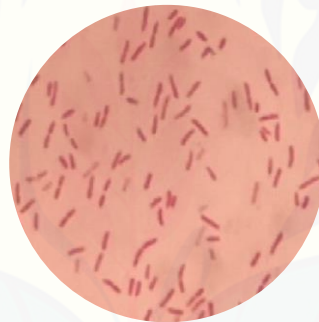
Menurut taksonominya, bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* diklasifikasikan sebagai berikut (Malik, *et al.*, 2015) :

Kingdom	: <i>Bacteria</i>
Filum	: <i>Proteobacteria</i>
Kelas	: <i>Gammaproteobacteria</i>
Ordo	: <i>Parteurellales</i>
Famili	: <i>Pasteurellaceae</i>
Genus	: <i>Aggregatibacter</i>
Spesies	: <i>Actinomycetemcomitans</i>

*Actinobacillus actinomycetemcomitans* berasal dari kata-kata Yunani, 'actes', yang berarti sinar karena koloni berbentuk bintang pada media agar dan 'mycetes', yang berarti jamur karena pada awalnya kortisol dianggap jamur. Kata Latin, 'comitan', yang berarti kesamaan dengan, atau spesies *Actinomyces* yang

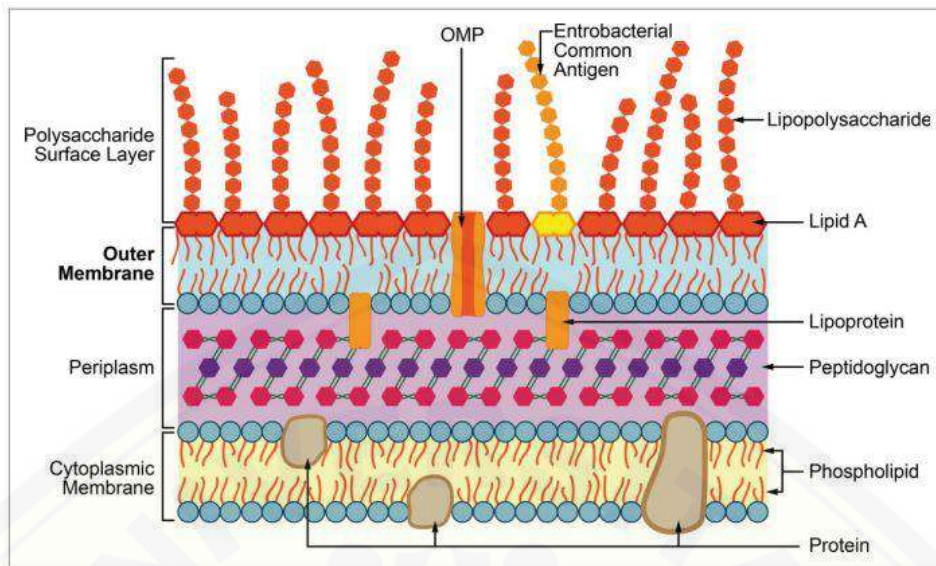
menyertainya, mencerminkan asosiasi *Actinobacillus* dengan *Actinomycetes*. Kilian dan Schiott adalah orang pertama yang menunjukkan bahwa *A. actinomycetemcomitans* hadir dalam plak gigi. Sehubungan dengan penyakit periodontal, pertama kali terlibat sebagai penyebab *juvenile periodontitis* pada tahun 1976 oleh Newman dan Slots. Penyakit ini sekarang disebut *localized aggressive periodontitis* (LAP) (Malik *et al.*, 2015).

*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* merupakan bakteri Gram negatif berbentuk kokobasil, dengan ukuran sekitar (0,7 x 1,0  $\mu$ ). Bakteri ini dapat tumbuh soliter atau berkoloni, tidak bergerak, bersifat fakultatif anaerob dan kapnofilik, bersifat patogen oportunistik, dan merupakan bagian flora normal yang berkolonisasi di mukosa rongga mulut, gigi, dan orofaring (Socransky dan Haffaje, 2006). Gambaran bakteri dapat dilihat pada Gambar 2.5.



**Gambar 2.5** Hasil pewarnaan Gram bakteri *A. actinomycetemcomitans* berbentuk kokobasil berwarna merah muda dari perbesaran mikroskop 10x100 (Arbi, 2018)

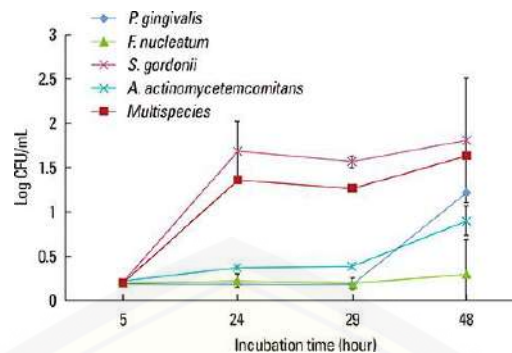
Bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* sebagai salah satu jenis bakteri gram negatif memiliki dua lapisan dinding sel. Lapisan luar tersusun dari lipopolisakarida dan protein dan lapisan dalam tersusun dari peptidoglikan yang lebih tipis dari bakteri gram positif (Hanif, 2009). Perbedaan struktur dinding sel bakteri gram negatif tercantum pada gambar 2.6. Bakteri *A. Actinomycetemcomitans* sangat mudah beradaptasi dengan suhu tubuh manusia dan akan kehilangan viabilitasnya dengan cepat di bawah 37 °C. *A. Actinomycetemcomitans* memiliki waktu penggandaan berkisar antara 150 hingga 180 menit (2,5 jam hingga 3 jam) yang cukup lambat dibandingkan dengan bakteri *E. coli* atau *H. influenza* dengan waktu penggandaan 20-30 menit (Smith *et al.*, 2015).



**Gambar 2.6** Struktur dinding sel bakteri gram negatif (Benso, 2017)

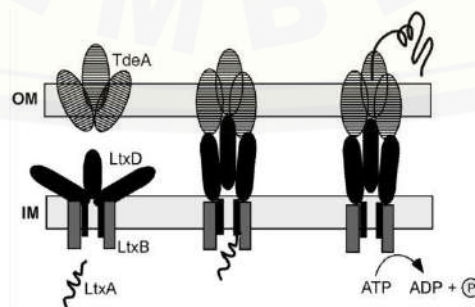
Penelitian oleh Burckhardt *et al.*, (2019) menunjukkan bahwa *single* koloni dari bakteri gram negatif terdeteksi pada rentang waktu inkubasi 6-18 jam. Berdasarkan penelitian Park *et al.*, (2014), bakteri *A. actinomycetemcomitans* dan *P. gingivalis* merupakan *late colonizers* atau bakteri dengan kolonisasi akhir dengan menunjukkan peningkatan jumlah bakteri yang lambat hingga 29 jam dibanding bakteri patogen periodontal lainnya seperti *S. Gordonii* dan *F. nucleatum*. Gambar grafik pertumbuhan bakteri dapat dilihat pada gambar 2.7. Berdasarkan grafik tersebut bakteri *A. Actinomycetemcomitans* pada waktu inkubasi 48 jam mengalami peningkatan pertumbuhan. Park *et al.*, (2014) juga menyatakan masa inkubasi biofilm *A. Actinomycetemcomitans* dapat dilakukan selama lebih dari 48 jam, mempertimbangkan studi sebelumnya oleh Prates *et al.*, (2007) yang menggunakan model biofilm *A. actinomycetemcomitans* 48 jam untuk menyelidiki efek bakterisidal dari terapi fotodinamik dengan laser hijau dan merah perunggu.





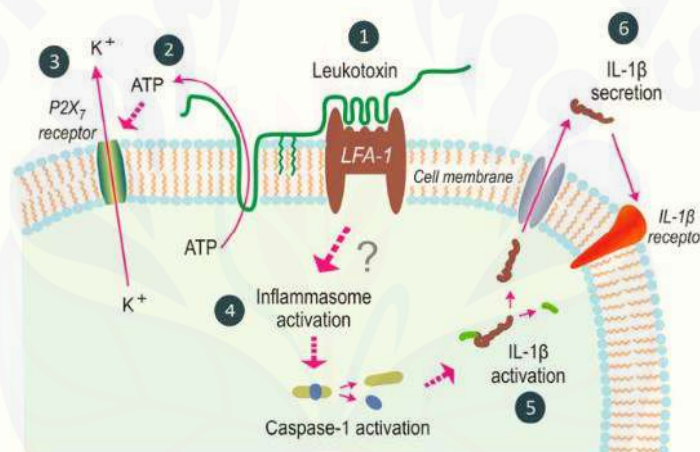
**Gambar 2.7** Grafik pertumbuhan bakteri patogen periodontal dengan masa inkubasi 48 jam oleh Park *et al.*, (2014)

*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* merupakan bakteri patogen jaringan periodontal penyebab terjadinya periodontitis agresif yang menyebabkan kerusakan progresif dari ligamen periodontal dan tulang alveolar. Bakteri ini menggunakan sel epitelium sebagai reservoir saat perlekatan inisial kemudian akhirnya berpindah ke permukaan gigi. Faktor virulen yang dimiliki oleh bakteri ini adalah leukotoksin, lipopolisakarida (LPS), dan *cytolethal distending toxin* (Cdt). Leukotoksin memainkan peran yang signifikan pada patogenesis periodontitis agresif oleh *A. actinomycetemcomitans*. Bakteri *A. actinomycetemcomitans* mampu melakukan penetrasi ke epitel gingiva dan memproduksi leukotoksin yang dapat membunuh netrofil dan monosit. Belibasakis *et al.*, (2019) menyatakan operon leukotoksin dalam urutan transkripsi terdiri dari empat gen yaitu LtxC, A, B dan D. LtxA adalah toksin aktif yang harus diasilasi oleh LtxC dan protein pembawa asil untuk dapat aktif secara biologis. Dua protein lainnya (LtxB dan LtxD) bertanggung jawab untuk transportasi dan sekresi LtxA (Gambar 2.8).



**Gambar 2.8** Ekspor leukotoksin *A. actinomycetemcomitans* yang diekspresikan ke membran luar bakteri. IM = Membran bagian dalam; OM = Membran luar target sel ; TdeA = *TolC like protein* (Johansson, 2011)

Produk gen lain yang aktif selain leukotoksin adalah *Repeats in Toxin* (RTX) *Family* berupa reseptor seluler 2-integrin, LFA-1 yang memiliki efek selektif dengan leukosit (Gambar 2.9). Leukotoksin dan RTX akan disekresi dan satu-satunya pengecualian untuk ini adalah toksin LtxA karena telah dianggap berikatan dengan sel host; baik pada permukaan sel yang berkaitan dengan asam nukleat atau dalam vesikel membran yang tumbuh dari permukaan bakteri (Henderson, *et al.*, 2002). LPS juga berfungsi sebagai antigen (Antigen O) pada rantai karbohidratnya. Selain itu bakteri ini juga memproduksi enzim kolagenase yang dapat merusak kolagen tipe 1. Hal ini dapat mendorong terjadinya degradasi kolagen dan gangguan pada jaringan ikat periodontal (Andayani, *et al.*, 2016 ; Hanif, 2009).



**Gambar 2.9** Proses leukotoxin (LtxA) menginduksi kematian sel pada makrofag pasien periodontitis (Belibasakis, *et al.*, 2019)

Skema tersebut menjelaskan Leukotoxin (LtxA) menginduksi kematian sel inflamasi yang cepat pada makrofag pasien periodontitis dengan berikatan melalui reseptor LFA-1, lalu (2) menginduksi pelepasan ATP ekstraseluler yang bertindak sebagai ligan untuk reseptor P2X<sub>7</sub> dan (3) menghasilkan ekskresi kalium. (4) Proses-proses ini menginduksi pembentukan multimer inflammasome yang mengaktifkan sistein proteinase caspase-1, (5) menghasilkan aktivasi IL-1 $\beta$  yang cepat hingga (6) sekresi IL-1 $\beta$  yang terlibat dalam peradangan akut dan kronis periodontitis (Belibasakis, *et al.*, 2019).

## 2.7 Uji Daya Hambat Antibakteri

Infeksi yang disebabkan oleh bakteri dapat dicegah, dikendalikan, dan diobati melalui kelompok senyawa antibakteri, antara lain senyawa alami, semi-sintetis ataupun sintetis yang dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri. Senyawa antibakteri harus mempunyai sifat toksisitas selektif, yaitu berbahaya bagi parasit, tetapi tidak berbahaya bagi inangnya (Xia *et al.*, 2010). Ketika bakteri terpapar senyawa antibakteri, ada dua respon yang dapat terjadi: (1) bakteri tidak terpengaruh atau resisten atau (2) bakteri sensitif terhadap aktivitas senyawa tersebut hingga terjadi penghambatan pertumbuhan, pembelahan, dan kematian bakteri (Stefanović *et al.*, 2012).

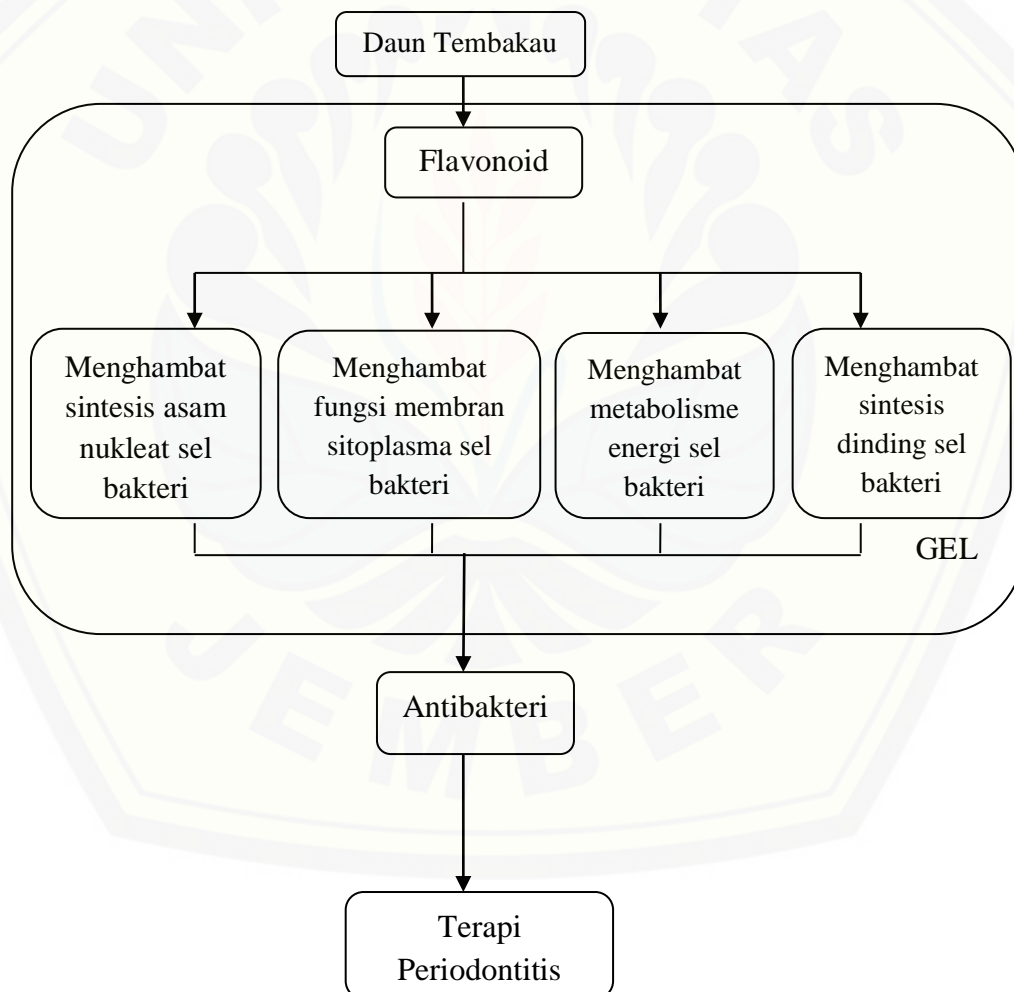
Berdasarkan cara kerjanya terhadap bakteri, efek antibakteri dapat digolongkan menjadi dua yaitu (1) bakterisidal, membunuh sel bakteri namun tidak menyebabkan sel lisis atau pecah dan (2) bakteristatik, menghambat pertumbuhan bakteri namun tidak membunuhnya (Dzen dan Sjoekoer, 2003). Konsep utama mekanisme kerja antibakteri dalam menghambat pertumbuhan ataupun membunuh bakteri yakni menghambat sintesis dinding sel bakteri, merusak membran sitoplasma bakteri, menghambat sintesis asam nukleat bakteri, dan menghambat metabolisme energi sel bakteri (Rachmawaty, 2016).

Daya suatu senyawa antibakteri dapat diukur secara *in vitro* untuk menentukan kemampuan aktivitas antibakterinya (Jawetz *et al.*, 1996). Penentuan kepekaan bakteri patogen terhadap antibakteri pada dasarnya dapat dilakukan dengan metode difusi. Metode difusi adalah suatu uji kualitatif yang memungkinkan klasifikasi bakteri sebagai rentan atau resisten terhadap suatu senyawa antibakteri yang diuji sesuai dengan ukuran diameter zona hambatan (Stefanović *et al.*, 2012). Metode ini umumnya dikenal sebagai metode Kirby-Bauer atau *disc diffusion*. Metode ini menggunakan kertas cakram standar yang telah mengandung senyawa antibakteri yang diletakkan di atas petridish yang berisi media agar yang telah diinokulasi bakteri. Selama masa inkubasi, senyawa antibakteri akan berdifusi dari kertas cakram ke media agar. Apabila senyawa antibakteri efektif maka akan terbentuk zona hambat di sekitar cakram yang akan diukur untuk menentukan kekuatan senyawa antibakteri tersebut (Rachmawaty,

2016). Selanjutnya, pengukuran antibakteri dapat dikelompokkan ke dalam klasifikasi Rauha *et al.*, (2000), yaitu:

- Tidak memiliki aktivitas antimikroba, jika pertambahan diameter <1 mm,
- Aktivitas **Rendah**, jika pertambahan diameternya 1–3 mm,
- Aktivitas **Sedang**, jika pertambahan diameternya 3–4 mm,
- Aktivitas **Baik**, jika pertambahan diameternya 4–10 mm, dan Aktivitas **Kuat**, jika pertambahan diameternya > 10 mm.

## 2.8 Kerangka Konsep



Gambar 2.10 Kerangka konsep

## 2.9 Hipotesis

2.8.1 Gel flavonoid daun tembakau Kasturi berpengaruh terhadap aktivitas pertumbuhan *A. actinomycetemcomitans*

2.8.2 Gel flavonoid daun tembakau Kasturi memiliki nilai viskositas yang baik sebagai nilai tahanan sediaan.



## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian yang dilakukan secara *post test control group design*.

### 3.2 Variabel Penelitian

#### 3.2.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah gel ekstrak flavonoid daun tembakau Kasturi (*Nicotiana tabacum L.*) pada konsentrasi 4 mg/ml, 2 mg/ml, 1 mg/ml, 0,5 mg/ml, 0,25 mg/ml, dan waktu paparan yaitu 12 jam, 24 jam, 36 jam, dan 48 jam.

#### 3.2.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah diameter zona hambat bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dan nilai viskositas gel flavonoid daun tembakau Kasturi.

#### 3.2.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah diameter kertas cakram sebesar 6mm, jumlah volume gel flavonoid daun tembakau Kasturi yang dioleskan pada kertas cakram yaitu sebanyak 10 µL, suhu inkubasi (37°C), daun tembakau kasturi yang sesuai kriteria sampel, dan sterilisasi alat dan bahan.

### 3.3 Besar Sampel

Besar sampel merupakan besar pengulangan dari tiap kelompok perlakuan. Rumus dalam menghitung jumlah pengulangan dalam penelitian eksperimental salah satunya menggunakan rumus Federer (Ihwah *et al.*, 2018). Adapun perhitungannya sebagai berikut :

$$t(r-1) > 15$$

Keterangan :

r = jumlah ulangan

t = jumlah kelompok perlakuan dan kelompok kontrol

$$t(r-1) > 15$$

$$9(r-1) > 15$$

$$9r - 9 > 15$$

$$9r > 24$$

$$r > 24/9$$

$$r > 2,667$$

$$r > 3$$

Berdasarkan perhitungan di atas, maka tiap kelompok percobaan dapat dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali.

### 3.4 Pengelompokan Sampel Penelitian

#### 3.4.1 Uji Antibakteri

Terdapat empat kelompok kontrol dan lima kelompok perlakuan, yaitu:

- Kelompok K1 : kontrol negatif bahan pembentuk gel yang terdiri dari *Carbopol 974P*, *Triethanolamine (TEA)*, *propylen glycol*, dan aquades sebanyak 4 kertas cakram,
- Kelompok K2 : kontrol negatif dimetil sulfoksida (DMSO) 1% dalam bentuk sediaan gel sebanyak 4 kertas cakram,
- Kelompok K3 : kontrol positif (gel metronidazol konsentrasi 2%), sebanyak 4 kertas cakram,
- Kelompok K4 : gel yang mengandung quercetin 0,05 mg/ml sebanyak 4 kertas cakram,

- e. Kelompok F1 : gel yang mengandung flavonoid daun tembakau Kasturi konsentrasi 4 mg/ml sebanyak 4 kertas cakram,
  - f. Kelompok F2 : gel yang mengandung flavonoid daun tembakau Kasturi konsentrasi 2 mg/ml sebanyak 4 kertas cakram,
  - g. Kelompok F3 : gel yang mengandung flavonoid daun tembakau Kasturi konsentrasi 1 mg/ml sebanyak 4 kertas cakram,
  - h. Kelompok F4 : gel yang mengandung flavonoid daun tembakau Kasturi konsentrasi 0,5 mg/ml sebanyak 4 kertas cakram,
  - i. Kelompok F5 : gel yang mengandung flavonoid daun tembakau Kasturi konsentrasi 0,25 mg/ml sebanyak 4 kertas cakram,
- Sehingga jumlah sampel kertas cakram yang akan digunakan pada penelitian adalah sebanyak 36 kertas cakram.

#### 3.4.2 Uji Viskositas

Terdapat satu kelompok kontrol dan lima kelompok perlakuan, yaitu :

- a. Kelompok K1 : kontrol negatif bahan pembentuk gel yang terdiri dari *Carbopol 974P*, *Triethanolamine (TEA)*, *propylen glycol*, dan aquades,
- b. Kelompok F1 : gel yang mengandung flavonoid daun tembakau Kasturi konsentrasi 4 mg/ml,
- c. Kelompok F2 : gel yang mengandung flavonoid daun tembakau Kasturi konsentrasi 2 mg/ml,
- d. Kelompok F3 : gel yang mengandung flavonoid daun tembakau Kasturi konsentrasi 1 mg/ml,
- e. Kelompok F4 : gel yang mengandung flavonoid daun tembakau Kasturi konsentrasi 0,5 mg/ml,
- f. Kelompok F5 : gel yang mengandung flavonoid daun tembakau Kasturi konsentrasi 0,25 mg/ml.



### 3.5 Definisi Operasional Variabel

#### 4.1.1 Ekstrak Flavonoid Daun Tembakau Kasturi

Ekstrak flavonoid daun tembakau Kasturi merupakan ekstrak yang berasal dari daun tembakau jenis Kasturi berkualitas rendah (koseran) yang diambil dari bagian bawah tanaman, berwarna kuning kecoklatan, dan atau berlubang, yang diambil dari Kecamatan Pakusari, Kabupaten Jember, Jawa Timur, yang diekstraksi dan dipurifikasi dengan metode maserasi menggunakan metanol, n-heksana, HCl 10%, dan etil asetat. Konsentrasi ekstrak flavonoid yang digunakan adalah 4 mg/ml, 2 mg/ml, 1 mg/ml, 0,5 mg/ml, dan 0,25 mg/ml.

#### 4.1.2 Gel Flavonoid Daun Tembakau Kasturi

Gel flavonoid daun tembakau Kasturi merupakan suatu bentuk sediaan obat dengan bahan penyusun (basis gel) yaitu *Carbopol 974P*, *Triethanolamine* (TEA), *propylen glycol*, dan aquades, yang mengandung ekstrak flavonoid daun tembakau Kasturi konsentrasi 4 mg/ml, 2 mg/ml, 1 mg/ml, 0,5 mg/ml, 0,25 mg/ml dalam DMSO 1%.

#### 4.1.3 *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* merupakan stok bakteri Gram negatif anaerob yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi *Research Center* FKG Unair yang telah terkarakterisasi melalui pengecatan Gram dan uji kimiawi.

#### 4.1.4 Diameter Zona Hambat

Diameter Zona Hambat adalah daerah jernih yang tampak di sekeliling kertas cakram yang diukur menggunakan jangka sorong dalam skala milimeter untuk mengetahui kekuatan gel flavonoid daun tembakau Kasturi dalam menghambat pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

#### 4.1.5 Antibakteri

Antibakteri merupakan sifat suatu zat untuk menghambat pertumbuhan serta perkembangan mikroorganisme bakteri yang dapat dibuktikan salah satunya pada uji dengan metode *disc diffusion* yang ditandai dengan terbentuknya daerah jernih di sekeliling kertas cakram pada waktu pengamatan 12, 24, 36, dan 48 jam.

#### 4.1.6 Nilai Viskositas

Nilai viskositas adalah nilai kekentalan gel flavonoid daun tembakau Kasturi untuk menyatakan besarnya tahanan sediaan gel dalam pengobatan *local drug delivery* yang diuji menggunakan viskometer *brooksfeld* dengan *spindle 64*. Semakin meningkat viskositas, akan menurunkan laju pelepasan (*drug release*) obat. Sebaliknya penurunan viskositas akan meningkatkan laju pelepasan obat.

### 3.6 Alat dan Bahan Penelitian

#### 3.6.1 Alat Penelitian

- 1) Alat untuk membuat ekstrak flavonoid dari daun tembakau Kasturi, yaitu:
  - a. Blender
  - b. Labu erlenmeyer
  - c. *Beaker glass*
  - d. *Orbital shaker*
  - e. Corong dan kertas saring
  - f. *Magnetic stirrer*
  - g. Lemari asam
  - h. *Rotary evaporator*
  - i. Labu alas bulat
  - j. Pipet
  - k. Timbangan analitik

- 2) Alat untuk pembuatan gel flavonoid daun tembakau Kasturi, yaitu:
  - a. Spatula
  - b. *Beaker glass*
  - c. Mortar
  - d. *Pestle*
  - e. Mikropipet
  - f. Timbangan
- 3) Alat untuk uji anti bakteri, yaitu:
  - a. Tabung Erlenmeyer
  - b. Petridish tidak bersekat
  - c. Ose
  - d. Bunsen
  - e. Tabung reaksi
  - f. Jangka sorong
  - g. Mikropipet
  - h. Kompor listrik
  - i. Spektrofotometer
  - j. *Laminar flow*
  - k. Inkubator
  - l. *Autoclave*
  - m. Sterilisator panas kering (oven)
  - n. Pinset
  - o. *Stopwatch*
- 4) Alat untuk uji viskositas, yaitu :
  - a. Tabung plastik diameter 5 cm
  - b. Viskometer *brooksfeld* (Gambar 3.1) dengan *spindle 64*



**Gambar 3.1** Viskometer *brooksfeld*

### 3.6.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian, yaitu:

- a. Daun tembakau Kasturi kualitas rendah (koseran) diperoleh dari Kecamatan Pakusari, Kabupaten Jember, Jawa Timur
- b. Bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*
- c. DMSO 1%
- d. *Carbopol 940P*
- e. *Propylen glycol*
- f. Media BHIA
- g. HCl 10%
- h. Metanol
- i. Etil asetat
- j. *Triethanolamine* (TEA)
- k. N-heksana
- l. Aquades
- m. *Dragendorff reagent*
- n. Metronidazol standar (bubuk)
- o. Quercetin standar (bubuk)
- p. Blank discs 6 mm
- q. Spidol dan kertas label
- r. Masker dan sarung tangan

### **3.7 Tempat Penelitian**

3.7.1 Pengeringan daun tembakau Kasturi dilakukan di Laboratorium *Drug Utilisation Discovery Research Group* (DUDRG), Fakultas Farmasi Universitas Jember.

3.7.2 Pembuatan ekstrak flavonoid daun tembakau Kasturi dilakukan di Laboratorium *Drug Utilisation Discovery Research Group* (DUDRG), Fakultas Farmasi Universitas Jember.

3.7.3 Pembuatan gel flavonoid daun tembakau Kasturi dilakukan di Laboratorium Farmasetika, Fakultas Farmasi Universitas Jember.

3.7.4 Uji aktivitas antibakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

3.7.5 Uji viskositas gel flavonoid daun tembakau Kasturi dilakukan di Laboratorium Farmasetika, Fakultas Farmasi Universitas Jember.

### **3.8 Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2019 – Desember 2019

### **3.9 Prosedur Penelitian**

#### **3.9.1 Tahap Persiapan**

Persiapan penelitian dimulai dengan menyiapkan *ethical clearance* dan surat ijin penelitian.

### 3.9.2 Ekstraksi dan Purifikasi Flavonoid Daun Tembakau Kasturi

Ekstraksi daun tembakau Kasturi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol. Ekstraksi dengan pelarut didasarkan pada sifat kepolaran zat dalam pelarut saat ekstraksi. Senyawa polar hanya akan larut pada pelarut polar, begitu pula senyawa non-polar hanya dapat larut pada pelarut non-polar (Leksono *et al.*, 2018). Metanol merupakan pelarut yang bersifat universal yang mampu mengikat semua komponen kimia yang terdapat pada tumbuhan bahan alam, baik yang bersifat non polar, semi polar, dan polar. Metanol mudah masuk ke dalam sel melewati dinding sel bahan, sehingga metabolit sekunder yang terdapat dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut dan senyawa akan terekstraksi sempurna (Lenny, 2006 dalam Suryani *et al.*, 2016). Berdasarkan penelitian oleh Suryani *et al.*, (2016) pelarut metanol mampu mengekstrak senyawa flavonoid daun matoa lebih baik dibanding air, etanol, aseton, dan isopropanol.

Pertama-tama, daun tembakau Kasturi kualitas rendah (koseran) dikumpulkan dari perkebunan tembakau di Kecamatan Pakusari Kabupaten Jember. Jenis tembakau ditentukan di BALITTAS Malang dengan surat identifikasi terlampir pada lampiran. Selanjutnya, daun tembakau dikeringkan dengan cara kering-angin pada suhu ruang selama 2 hari, kemudian dioven selama 24 jam pada suhu 40°C. Daun kering dihaluskan menggunakan blender. Selanjutnya, dilakukan ekstraksi daun tembakau dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol. Serbuk daun 50 g ditambahkan metanol 96% hingga 400 ml, kemudian diaduk pada *orbital shaker* dengan kecepatan 150 rpm selama 24 jam. Setelah 24 jam, larutan 400 ml disaring dengan corong dan kertas saring. Larutan filtrat 400 ml diuapkan di *rotary evaporator* selama 2,5 jam menghasilkan 50 ml filtrat yang diuapkan kembali di lemari asam dengan suhu 40°C sampai ekstrak kering menjadi 5 g.

Ekstrak kering daun tembakau kasturi 1 g ditambahkan dengan 10 ml pelarut fase polar (metanol:aquades (1:9)). Larutan ditambahkan 10 ml n-heksana menghasilkan dua lapisan. Lapisan bawah (fase polar) ditambahkan 20 ml HCl 10% dan 20 ml etil asetat sehingga terbentuk dua lapisan. Lapisan atas (fase polar)

20 ml dievaporasi di lemari asam yang menghasilkan 20 mg ekstrak kaya flavonoid. Jumlah rendemen ekstrak flavonoid daun tembakau Kasturi berdasarkan perhitungan (Depkes RI, 2008 dalam Putranti, *et al.*, 2018) didapatkan sebesar 0,0004%.

Perhitungan rendemen ekstrak flavonoid daun tembakau Kasturi :

$$\frac{\text{Bobot ekstrak}}{\text{Bobot simplisia}} \times 100\% = \frac{0,02 \text{ g}}{50 \text{ g}} \times 100\% = 0,0004 \%$$

Uji *dragendorff* dilakukan untuk menguji kandungan nikotin. Ekstrak kaya flavonoid ditetaskan di atas kertas saring dan ditetaskan lagi dengan *dragendorff reagent*. Hasil uji berwarna kuning jika bebas nikotin dan berwarna oranye jika masih mengandung nikotin. Prosedur disusun berdasarkan modifikasi dari protokol Docheva *et al.*, (2014).

### 3.9.3 Preparasi Pembuatan sampel Gel

Penelitian ini menggunakan sampel perlakuan ekstrak flavonoid daun tembakau Kasturi yang diencerkan menggunakan DMSO 1%. Pengenceran dilakukan dengan menggunakan rumus (Aprilia, 2019) :

$$V1.M1 = V2.M2$$

Keterangan :

- V1 : Volume awal ekstrak flavonoid daun tembakau Kasturi
- M1 : Konsentrasi awal ekstrak flavonoid daun tembakau Kasturi
- V2 : Volume akhir ekstrak flavonoid daun tembakau Kasturi
- M2 : Konsentrasi akhir ekstrak flavonoid daun tembakau Kasturi

Larutan ekstrak flavonoid dengan konsentrasi 0,25, 0,5, 1, 2, dan 4 mg/ml dicampurkan dalam *Carbopol 974P*, *propylen glycol*, TEA, dan aquades (1:5:5:90). Campuran ini diaduk perlahan hingga homogen dan membentuk massa gel yang kental. Hidrogel dituang ke dalam petridish dan dibiarkan semalam untuk stabilisasi.

Pembuatan gel kontrol juga dilakukan yakni gel metronidazol konsentrasi 2% dan quercetin konsentrasi 0,05 mg/ml sebagai kelompok kontrol positif serta basis gel dan gel DMSO 1% digunakan sebagai kontrol negatif. Penggunaan gel metronidazol 2% sebagai kontrol positif didasarkan pada penelitian Adha *et al.*, (2017) yang melakukan penelitian efektivitas gel metronidazol berbasis chitosan dalam menghambat pertumbuhan bakteri periodontal *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, dan *Fusobacterium nucleatum* secara *in vitro*. Gel metronidazol tersebut di preparasi dengan konsentrasi 0,125%, 0,25%, 0,5%, 1% dan 2%. Hasilnya menunjukkan bahwa gel metronidazol konsentrasi 2% memberikan daya antibakteri paling besar dalam pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* di semua waktu paparan yakni jam ke 24, 48, dan 72 jam dibanding sampel konsentrasi gel metronidazol lainnya.

Sebanyak 1,7 g metronidazol bubuk standar dan 0,25 ml larutan quercetin masing-masing dicampurkan ke dalam basis gel *Carbopol 974P*, *propylen glycol*, TEA, dan aquades (1:5:5:90) yang berbeda (perhitungan tercantum pada lampiran) untuk menghasilkan gel metronidazol 2% dan gel quercetin 0,05 mg/ml. Kontrol negatif gel DMSO 1% dibuat dengan mencampurkan larutan DMSO murni sebanyak 0,7 ml pada basis gel *Carbopol 974P*, *propylen glycol*, TEA, dan aquades (1:5:5:90) (perhitungan tercantum pada lampiran).

#### 3.9.4 Pembuatan Media Uji Antibakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Uji antibakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dilakukan pada media kultur BHIA, yang dibuat dengan cara mencampur bubuk BHIA dan aquades kemudian disterilkan dengan *autoclave* 121° C selama 15 menit dan dibiarkan dingin hingga mencapai suhu 50°C. Selanjutnya dilakukan penuangan ke dalam petridish, yang dilakukan di dalam *laminar flow*, dan kemudian dimasukkan ke lemari pendingin.



### 3.9.5 Pembuatan Suspensi Bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi *Research Center* FKG Unair yang telah terkarakterisasi melalui pengecatan Gram dan uji kimiawi (surat identifikasi tercantum dalam lampiran 3). Selanjutnya suspensi dibuat dengan mengambil 1 ose biakan *A. actinomycetemcomitans* lalu dilarutkan dalam 0,5 *brain heart infusion broth* (BHIB) cair pada tabung reaksi, yang dilakukan di dalam *laminar flow*. Setelah itu, suspensi tersebut dimasukkan ke dalam desikator terlebih dahulu untuk mendapatkan suasana anaerob. Kemudian suspensi diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Setelah itu, suspensi dilarutkan kembali dengan media BHIB sampai mencapai 0,5 *Mc Farland* atau sebanding dengan jumlah bakteri  $1,5 \times 10^8$  CFU/mL.

### 3.9.6 Inokulasi Bakteri

Inokulasi bakteri dilakukan menggunakan teknik *spread plate* pada media kultur BHIA untuk bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Media kultur terlebih dahulu dibagi menjadi empat bagian yang ditandai menggunakan spidol pada bagian luar petridish. Kemudian ditetaskan bakteri sebanyak 0,5 ml, lalu dilakukan pemerataan di atas permukaan media kultur menggunakan swab steril hingga merata. Tahapan inokulasi dilakukan di dalam *laminar flow*.

### 3.9.7 Uji Daya Hambat Antibakteri

Uji daya hambat antibakteri dilakukan dengan metode *disc-diffusion*. Kertas cakram steril diameter 6 mm ditetesi dengan gel flavonoid daun tembakau Kasturi konsentrasi 0,25, 0,5, 1, 2, dan 4 mg/ml sebanyak 10 µL dan dipastikan merata pada tiap sisi (Octaviani *et al.*, 2019). Kontrol negatif terdiri dari kertas cakram steril dengan basis gel dan kertas cakram steril dengan gel DMSO 1%. Kontrol positif terdiri dari kertas cakram steril dengan gel metronidazol 2% dan kertas cakram steril dengan gel quercetin 0,05 mg/ml. Cakram diinkubasi pada suhu

ruang selama 24 jam. Kertas cakram tersebut ditempelkan di atas permukaan media kultur yang telah diinokulasi dengan biakan bakteri *A. actinomycetemcomitans*. Setelah itu, kertas cakram ditekan secara perlahan menggunakan pinset steril untuk memastikan bahwa kertas cakram sudah benar-benar menempel pada media kultur. Cara peletakan kertas cakram pada media kultur untuk kontrol positif dan kontrol negatif dilakukan seperti pada kelompok perlakuan. Tahapan uji antibakteri dilakukan di dalam *laminar flow*. Media kultur dibalik supaya uap pada permukaan tutup media kultur tidak jatuh mengenai permukaan media kultur. Media kultur dimasukkan dalam desikator dan dilakukan inkubasi selama 12, 24, 36 dan 48 jam pada suhu 37° C dengan kondisi anaerobik.

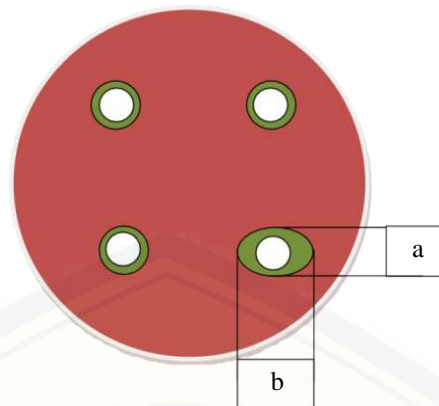
#### 3.9.8 Pengukuran Zona Hambat

Pengukuran diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dilakukan menggunakan jangka sorong sebanyak 2 kali oleh 2 orang pengamat yang berbeda. Pengukuran dilakukan setelah inkubasi bakteri selama 12, 24, 36 dan 48 jam. Zona hambat adalah daerah atau wilayah jernih yang tampak di sekeliling kertas cakram.

Cara pengukuran zona hambat yaitu apabila zona hambat berbentuk lingkaran maka pengukuran dilakukan dengan mengukur diameter dari zona hambat. Apabila zona hambat berbentuk lonjong, maka pengukuran dilakukan pada diameter zona hambat yang panjang (misal a mm) dan diameter zona hambat yang pendek (misal b mm) kemudian keduanya dijumlah dan dibagi dua. Jadi diameter zona hambatnya =  $\frac{a + b}{2}$  (Majidah *et al.*, 2014).

Hasil pengukuran dikelompokkan dalam klasifikasi Rauha *et al.*, (2000) :

- Tidak memiliki aktivitas antimikroba, jika pertambahan diameter <1 mm,
- Aktivitas **Rendah**, jika pertambahan diameternya 1–3 mm,
- Aktivitas **Sedang**, jika pertambahan diameternya 3–4 mm,
- Aktivitas **Baik**, jika pertambahan diameternya 4–10 mm, dan
- Aktivitas **Kuat**, jika pertambahan diameternya > 10 mm.



**Gambar 3.2** Pengukuran zona hambat bakteri yang berbentuk lonjong dan desain peletakan disc, a: diameter terpendek, b: diameter terpanjang, warna putih menunjukkan kertas cakram ukuran 6 mm, warna hijau menunjukkan zona hambat, warna merah menunjukkan media agar

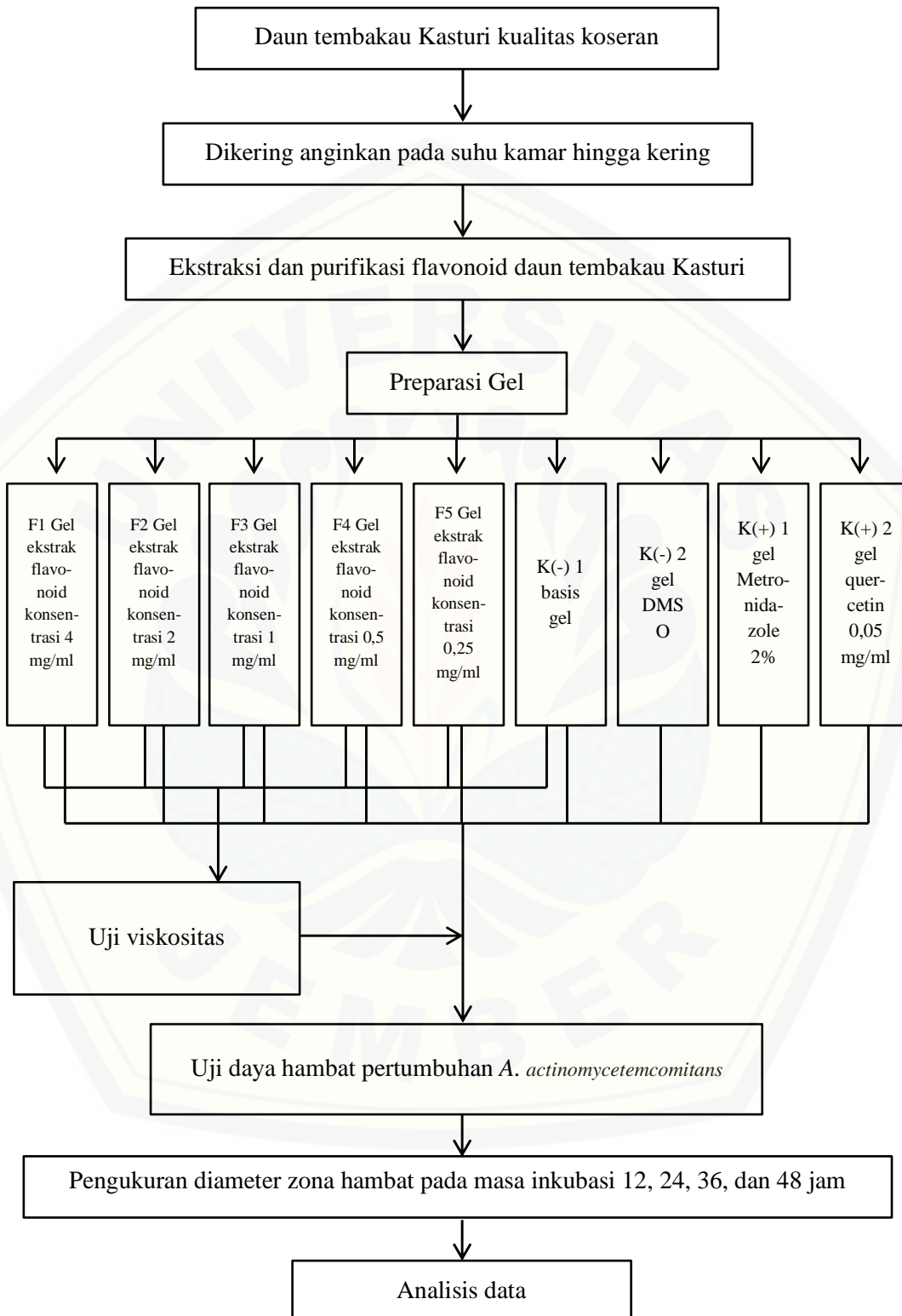
### 3.9.9 Uji Viskositas

Gel flavonoid dimasukkan ke dalam wadah berbentuk tabung lalu dipasang *spindle 64*. *Spindle 64* harus terendam dalam sediaan uji. Viskometer dinyalakan dan dipastikan rotor dapat berputar pada kecepatan 60 rpm. Jarum penunjuk viskometer yang mengarah ke angka pada skala viskositas diamati dan dicatat. Prosedur disusun berdasarkan modifikasi dari protokol Astuti *et al.*, (2017).

### 3.10 Analisis Data

Data uji antibakteri disajikan dalam rata-rata  $\pm$  SD dan dianalisis dengan uji *Multivariate ANOVA* (MANOVA). Selanjutnya perbedaan antar kelompok diuji dengan uji *Bonferroni dan Games Howell*. Nilai  $P < 0,05$  dianggap berbeda secara signifikan.

### 3.11 Alur Penelitian



Gambar 3.3 Alur Penelitian

## BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

- 5.1.1 Gel flavonoid daun tembakau Kasturi (*Nicotiana tabacum L.*) memiliki aktivitas antibakteri yang baik terhadap bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* pada konsentrasi 4 mg/ml di semua waktu paparan dan konsentrasi 2 mg/ml di waktu paparan 12 jam.
- 5.1.2 Gel flavonoid daun tembakau Kasturi memiliki nilai viskositas yang baik sebesar 200 dPa.s yang lebih rendah dibanding basis gel sebagai nilai tahanan sediaan.

### 5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan saran yang dapat diberikan adalah sebagai berikut:

- 5.2.1 Dilakukan formulasi gel untuk memperoleh konsentrasi optimal penghambatan pertumbuhan bakteri.
- 5.2.2 Dilakukannya uji *drug release* pada gel flavonoid daun tembakau Kasturi untuk mengetahui waktu pelepasan obat.
- 5.2.3 Dilakukannya uji stabilitas fisik yang lain untuk memastikan gel flavonoid daun tembakau Kasturi stabil dan aman untuk digunakan.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Adha, N., I. Ervina, dan H. Agusnar. 2017. *The Effectiveness of Metronidazole Gel Based Chitosan Inhibits the Growth of Bacteria Aggregatibacter actinomycetemcomitans, Porphyromonas gingivalis, Fusobacterium nucleatum (In vitro)*. *International Journal of Applied Dental Sciences* 3(2): 30-37.
- Ande, B. 2014. Pengaruh Penambahan Konsentrasi Carbopol® 940 pada Sediaan Sunscreen Gel Ekstrak Temu Giring (*Curcuma heyneana Val.*) terhadap Sifat Fisik dan Stabilitas Sediaan dengan Sorbitol sebagai Humectant. *Skripsi*. Yogyakarta: Jurusan Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma.
- Andayani, R., A.I. Nasution, dan A. Rahimi. 2016. Kemampuan Air Rebusan Daun Salam (*Eugenia polyantha wight*) terhadap Jumlah Makrofag pada Gambaran Histologi Periodontitis Agresif (Penelitian pada Tikus Model). *Cakradonya Dent Journal* 8(2):79-87.
- Aprilia, A.D. 2019. Aktivitas Antibakteri Flavonoid Daun Tembakau Kasturi Dalam Gel Periodontal terhadap *Porphyromonas gingivalis* dan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. *Skripsi*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Arbi, N.H. 2018. Efektivitas Ekstrak Daun Sirsak Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ATCC 6514 (*In Vitro*). *Skripsi*. Medan: Fakultas Kedokteran Gigi Unuversitas Sumatera Utara.
- Ashar, M. 2016. Formulasi dan Uji Stabilitas Fisik Sediaan Gel Ekstrak Daun Botto'-Botto' (*Chromolaena Odorata L*) Sebagai Obat Jerawat dengan Menggunakan Variasi Konsentrasi Basis Karbopol. *Skripsi*. Makassar: Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
- Aslani, A., A. Ghannadi, dan H. Najafi. 2013. *Design, Formulation and Evaluation of a Mucoadhesive Gel from Quercus brantii L. and Coriandrum sativum L. as Periodontal Drug Delivery*. *Adv Biomed Res* 2:21.
- Astuti, D.P., P. Husni, dan K. Hartono. 2017. Formulasi dan Uji Stabilitas Fisik Sediaan Gel Antiseptik Tangan Minyak Atsiri Bunga Lavender (*Lavandula angustifolia miller*). *Farmaka* 15(1):176-183.

- Belibasakis, G.N., T. Maula, K. Bao, M. Lindholm, N. Bostanci, J. Oscarsson, R. Ihalin, dan A. Johansson. 2019. *Virulence and Pathogenicity Properties of Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. *Pathogens* 8(4): 222.
- Benso, Bruna. 2017. *Virulence Factors Associated with Aggregatibacter actinomycetemcomitans and Their Role in Promoting Periodontal Diseases*. *Virulence* 8(2): 111-114.
- Burckhardt, I., K. Last, dan S. Zimmermann. 2019. *Shorter Incubation Times for Detecting Multi-drug Resistant Bacteria in Patient Samples: Defining Early Imaging Time Points Using Growth Kinetics and Total Laboratory Automation*. *Ann Lab Med* 39(1): 43-49.
- Constantinescu, T., C.N. Lungu dan I. Lung. 2019. *Lipophilicity as a Central Component of Drug-Like Properties of Chalcones and Flavonoid Derivatives*. *Molecules* 24(1505): 1-11.
- Cushnie, T.P. dan A.J. Lamb. 2005. *Antimicrobial Activity of Flavonoids*. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26: 343–356.
- Dinas Perkebunan Provinsi Jawa Timur. 2013. *Mekanisasi Pengolahan Tanah dan Pasca Panen Tembakau Kasturi*. Surabaya : Dinas Perkebunan Provinsi Jawa Timur.
- Djajadi. 2015. *Tobacco Diversity in Indonesia*. *Journal of Biological Research* 20: 27-32.
- Docheva, M., S. Dagnon, dan S.S. Abeghe 2014. *Flavonoid Content and Radical Scavenging Potential of Extracts Prepared from Tobacco Culvitaris and Waste*. *Natural Product Research* 28 : 1328-1334.
- Dzen dan M. Sjoekoer. 2003. *Bakteriologi Medik*. Malang: Banyumedia.
- Echeverria, J., J. Opazo, L. Mendoza, A. Urzua, dan M. Wilkens. 2017. *Structure Activity and Lipophilicity Relationships of Selected Antibacterial Natural Flavones and Flavanones of Chilean Flora*. *Molecules* 22: 608.
- European Federation of Periodontology (EFP) and European Observatory of Periodontology and Implant Dentistry (EOPID). 2018. *Dossier on Periodontal Disease*. [https://www.efp.org/publications/EFP\\_Dossier\\_on\\_Periodontal\\_Disease\\_2018.pdf](https://www.efp.org/publications/EFP_Dossier_on_Periodontal_Disease_2018.pdf). [Diakses pada 16 September 2019].
- Fajrina, A. 2017. *Formulasi Sediaan Gel Ekstrak Etanol Daun Jambu Bol (Syzgium Malaccense L. Merr & Perry) sebagai Pengobatan Luka Sayat*. *Skripsi*. Medan: Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara.

- Farhadi F., B. Khameneh, M. Iranshahi, dan M. Iranshahy. 2018. *Antibacterial activity of flavonoids and their structure–activityrelationship: An update review. Phytotherapy Research* (33) : 13–40.
- Fathima, A. dan J.R. Rao. 2016. *Selective Toxicity of Catechin—a Natural Flavonoid towards Bacteria. Appl Microbiol Biotechnol* (100) : 6395–6402.
- Górniak, I., R. Bartoszewski, dan J. Króliczewski. 2018. *Comprehensive Review of Antimicrobial Activities of Plant Flavonoids. Phytochem Rev* 18: 241–272.
- Gunawan, S.G. 2007. *Farmakologi dan Terapi Edisi 5. Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. h : 117-119.*
- Hanif, M.S.A. 2009. *Pola Resistensi Bakteri dari Kultur Darah terhadap Golongan Penisilin di Laboratorium Mikrobiologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Skripsi. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.*
- Henderson, B., M. Wilson, L. Sharp, dan J.M. Ward. 2002. *Actinobacillus actinomycetemcomitans. J Med Microbiol* 51 (2002): 1013–1020.
- Hirai, I., M. Okuno, R. Katsuma, N. Arita, M. Tachibana, dan Y. Yamamoto. 2010. *Characterisation of anti-Staphylococcus aureus Activity of Quercetin. International Journal of Food Science & Technology* 45(6): 1250-1254.
- <https://arpimed.am/metronidazole-denta-gel-for-gums/> [Diakses pada 01 Juni 2020].
- <http://balittas.litbang.pertanian.go.id/index.php/component/tags/tag/121-tembak-au-kasturi> [Diakses pada 20 Oktober 2019].
- Ihwah, A., P. Deoranto, S. Wijana, dan I.A. Dewi. 2018. *Comparative study between Federer and Gomez method for number of replication in complete randomized design using simulation: study of Areca Palm (Areca catechu) as organic waste for producing handicraft paper. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science* 012049 : 1-12.
- Jain, N., G.K. Jain, S. Javed, Z. Iqbal, S. Talegaonkar, F.J. Ahmad, dan R.K. Khar. 2008. *Recent approaches for the treatment of periodontitis. Drug Discov Today* 13: 932–43.
- Jawetz, E.L., J. Melnick, dan A. Edward. 1996. *Mikrobiologi Kedokteran. Jakarta: EGC.*



- Johansson, Anders. 2011. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* Leukotoxin: A Powerful Tool with Capacity to Cause Imbalance in the Host Inflammatory Response. *Toxins* 3(3): 242-259.
- Junior, S.D.D.C., J.V.D.O. Santos, Campos L.A.D.A. Campos, M.A. Pereira, N.S.S. Magalhaes, dan I.M.F. Cavalcanti. 2018. *Antibacterial and Antibiofilm Activities of Quercetin against Clinical Isolates of Staphylococcus aureus and Staphylococcus saprophyticus with Resistance Profile. International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology (IJEAB)* 3(5): 1948-1958.
- Kindangen, O.C., P.V.Y. Yamlean, dan D.S. Wewengkang. 2018. Formulasi Gel Antijerawat Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum basilium L.*) dan Uji Aktivitasnya terhadap Bakteri *Staphyococcus aureus* secara in Vitro. *Phormacon Jurnal Ilmiah Farmasi* 7(3): 283-293.
- Krismariono, Agung. 2009. Antibiotika Sistemik dalam Perawatan Penyakit Periodontal. *Periodontic Journal* 1(1): 15-19.
- Kristiani, V. dan F.I. Halim. 2014. Pengaruh Konsentrasi Etanol dan Waktu Maserasi terhadap Perolehan Fenolik, Flavonoid, dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rambut Jagung. *Skripsi*. Surabaya: Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Katolik Widya Mandala.
- Kurniawan, Rahmat. 2015. Kualitas Tembakau Besuki *Na-Oogst* pada Lahan yang Dipupuk Menggunakan Pupuk Alam dan Urea. *Skripsi*. Jember: Jurusan Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jember.
- Lee, JH., J.H. Park, H.S. Cho, S.W. Joo, M.H. Cho, dan J. Lee. 2013. *Anti-biofilm Activities of Quercetin and Tannic Acid against Staphylococcus aureus. J Biofouling* 29(5): 491-499.
- Leksono, W. B., R. Pramesti, G.W. Santosa, dan W.A. Setyati. 2018. Jenis Pelarut Metanol dan N-Heksana terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumpuk Laut *Gelidium sp.* dari Pantai Drini Gunungkidul – Yogyakarta. *Jurnal Kelautan Tropis* 21(1):9–16.
- Majidah, D., D.W.A. Fatmawati, dan A. Gunadi. 2014. Daya Antibakteri Ekstrak Daun Seledri (*Apium graveolens L.*) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans* sebagai Alternatif Obat Kumur. *Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa- Repository UNEJ*.
- Malik, R., R. Changela, P. Krishan, S. Gugnani, dan D. Bali. 2015. *Virulence factors of Aggregatibacter actinomycetemcomitans – a status update. J Int Clin Dent Research Organization* 7(2): 157-44.

- Medlicott, N.J., M.J. Rathbone, I.G. Tucker, dan D.W. Holborow. 1994. *Delivery Systems for the Administration of Drugs to the Periodontal Pocket*. *Adv Drug Deliv Rev* 13(1-2): 181–203.
- Mlachkova, A.M. dan C.L. Popova. 2014. *Efficiency of Nonsurgical Periodontal Therapy in Moderate Chronic Periodontitis*. *Folia Med (Plovdiv)* 56(2): 109–115.
- Nitasari, Devi. 2010. Analisis Pendapatan Usaha Tani dan Tataniaga Tembakau *Voor Oogst* Kasturi pada Gabungan Kelompok Tani Permata VII Desa Pakusari, Kecamatan Pakusari, Kabupaten Jember, Provinsi Jawa Timur. Departemen Agribisnis Fakultas Ekonomi dan Manajemen Institut Pertanian Bogor: 12-14.
- Octaviani, M., H. Fadhli, dan E. Yuneistya. 2019. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol dari Kulit Bawang Merah (*Allium cepa L.*) dengan Metode Difusi Cakram. *Pharmaceutical Sciences and Research (PSR)* 6(1): 62 – 68.
- Osonga, F.J., A. Akgul, R.M. Miller, G.B. Eshun, I. Yazgan, A. Akgul, dan O.A. Sadik. 2019. *Antimicrobial Activity of a New Class of Phosphorylated and Modified Flavonoids*. *ACS Omega* 4(7): 12865–12871.
- Panche, A.N., A.D. Diwan, dan S.R. Chandra. 2016. *Flavonoids: an Overview*. *Journal of Nutritional Science* 5(47): 1 of 15.
- Park, J.H., J.K. Lee, H.S. Um, dan B.S. Chang. 2014. *A Periodontitis-associated Multispecies Model of an Oral Biofilm*. *J Periodontal Implant Sci* 44(2): 79-84.
- Petti, S. dan C. Scully. 2009. *Polyphenols, Oral Health and Disease: A review*. *J Dent* 37: 413–23.
- Pratami, J.T. 2018. Pengaruh Ekstrak Flavonoid Daun Tembakau Kasturi terhadap Kadar *Cyclooxygenase-2* pada *Human Peripheral Blood Mononuclear Cell* yang Dipapar Lipopolisakarida *Porphyromonas gingivalis*. *Skripsi*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Prates, R.A., A.M. Yamada Jr, L.C. Suzuki, M.C.E. Hashimoto, S. Cai, S.G. Soares, L. Gomes, dan M.S. Riberio. 2007. *Bactericidal Effect of Malachite Green and Red Laser on Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J Photochem Photobiol B*. 86(1): 70–76.
- Putranti, W., N.A. Dewi, dan L. Widiyastuti. 2018. *Standardization of Extract and Characterization of Emulgel Formula of Lengkuas (Alpinia Galanga (L.) Willd) Rhizome Extract*. *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas* 15(2): 81-91.

- Putri, R.H., I. Barid, dan B. Kusumawardani. 2014. Daya Hambat Ekstrak Daun Tembakau terhadap Pertumbuhan Mikroba Rongga Mulut. *Stomatognatic* 11: 27-31.
- Rachmawaty, D.U. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol, Etil Asetat dan Petroleum Eter Rambut Jagung Manis (*Zea mays ssaccharata* Sturt) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Skripsi*. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Rams, T.E., J.E. Degener, dan A.J.V. Winkelhoff. 2014. *Antibiotic Resistance in Human Chronic Periodontitis Microbiota*. *J Periodontol* 85(1) :160–9.
- Rauha, J.P., S. Remes, M. Heinonen, A. Hopia, M. Kahkonen, T. Kujala, K. Pihlaja, H. Vuorela, dan P. Vuorela. 2000. *Antimicrobial Effects of Finish Plant Extracts Containing Flavonoid and other Compounds*. *Int J Food Microbiol* 56(1): 3-12.
- Redha, Abdi. 2010. Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidasi dan Peranannya dalam Sistem Biologis. *Jurnal Berlian* 9(2): 196-202.
- Rizki, Faisal. 2016. Uji Sitotoksitas Ekstrak Flavonoid Rendah Nikotin Limbah Daun Tembakau Kasturi (*Nicotiana tabacum L.*) pada Kultur Sel Fibroblas Gingiva Manusia. *Skripsi*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Rosalina, R.D. 2017. Pengukuran Viskositas Minyak Goreng pada Berbagai Variasi Suhu dengan Menggunakan Sensor Fiber Optik. *Skripsi*. Yogyakarta: Fakultas MIPA Universitas Negeri Yogyakarta.
- Ru, Q.M., L.J. Wang, W.M. Li, J.L. Wang, dan Y.T. Ding, 2012. *In Vitro Antioxidant Properties of Flavonoid and Polysaccharides Extract from Tobacco (Nicotiana tabacum L.) Leaves*. *Journal Molecules* 17(9): 11281-1291.
- Sabir, A. 2003. Pemanfaatan Flavonoid di Bidang Kedokteran Gigi. *Maj Ked Gigi (Dental Journal) Edisi Khusus Temu Ilmiah Nasional III*: 81–87.
- Sabir, A. 2005. Aktivitas Antibakteri Flavonoid Propolis *Trigona sp.* terhadap Bakteri *Streptococcus mutans (In vitro)*. *Maj Ked Gigi (Dent. J.)* 38(3): 135-141.
- Sharma Y., D. Dua, A. Nagar, dan N.S. Srivastava. 2016. *Antibacterial Activity, Phytochemical Screening and Antioxidant Activity of Stem of Nicotiana Tabacum*. *IJPSR* 7(3): 1156-1167.

- Smith, K.P., T. Ruiz, dan K.P. Mintz. 2015. *Inner-Membrane Protein MorC is Involved in Fimbriae Production and Biofilm Formation in Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. *Microbiology* 162(3): 513–525.
- Sockransky, A. dan A. Haffaje. 2006. *Microbiology of Periodontal Disease : Genetics, Polymicrobial Communities, Selected Pathogens and Treatment*. *J. Periodontol* 42: 114–58.
- Stefanović, O., I. Radojević, S. Vasić, dan L. Čomić. 2012. *Antibacterial Activity of Naturally Occurring Compounds from Selected Plants*. *Intech – Antimicrobial Agents* 1: 1-24.
- Suryani, N.C., D.G.M. Permana, dan A.A.G.N.A. Jambe. 2016. Pengaruh Jenis Pelarut terhadap Kandungan Total Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Matoa (*Pometia pinnata*). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan* 5(1): 1-10.
- Susilowati, E.Y. 2006. Identifikasi Nikotin dari Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum*) Kering dan Uji Efektifitas Ekstrak Daun Tembakau sebagai Insektisida Penggerak Batang Padi (*Scirpophaga inonata*). *Skripsi*. Semarang: Universitas Negeri Semarang.
- Tarahovsky, Y.S., Y.A. Kim, E.A. Yagolnik, dan E.N. Muzafarov. 2014. *Flavonoid-Membrane Interaction: Involvement of Flavonoid-Metal Complexes in Raff Signaling*, *Biochim Biophys Acta* 1838(5): 1235-1246.
- Wang, S., J. Yao, B. Zhou, J. Yang, M.T. Chaudry, M. Wang, F. Xiao, Y. Li, dan W. Yin. 2018. *Bacteriostatic Effect of Quercetin as an Antibiotic Alternative In Vivo and its Antibacterial Mechanism In Vitro*. *Journal of Food Rotection* 1(81): 67-78.
- Widodo, S.A., B. Kusumawardani, dan D.W.A. Fatmawati. 2014. Identifikasi Bentuk Sel Anaerob berdasarkan Warna Koloni pada *Gingival Crevicular Fluid* Pasien Gingivitis Kronis dan Periodontitis Kronis. *Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa-Repository UNEJ*.
- Wu, D., Y. Kong, C. Han, J. Chen, L. Hu, H. Jiang, dan X. Shen. 2008. *D-Alanine: D-alanine Ligase as a New Target for the Flavonoids Quercetin and Apigenin*. *International Journal of Antimicrobial Agents* 32(5): 421–426.
- Xia E., G. Deng, Y. Guo, dan H. Li. 2010. *Biological Activities of Polyphenols from Grapes*. *International Journal of Molecular Sciences* 11: 622-646.

Yu, Y., P.K. Soma, Y.M. Lo, C.I. Wei, dan W.H. Cheng. 2012. *Effect of Nicotine-free Tobacco Extract on DNA Damage Responses in Cancerous and Non-cancerous Cells. J Carcinogene Mutagene* 3(002): 1-5.

Zingale, J., L. Harpenau, G. Bruce, D. Chambers, dan W. Lundergan. 2012. *The Effectiveness of Scaling and Root Planing with Adjunctive Time-Release Minocycline Using an Open and Closed Approach for the Treatment of Periodontitis. Gen Dent* 60(4): 300–305.

Zulfa, L. dan D.N. Mustaqimah. 2011. Terapi Periodontal non Bedah. *Dentofasial* 10(1): 36-41.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Izin Penelitian

 KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
Jl. Kalimantan No. 37 Jember ☎(0331) 333536, Fak. 331991

---

Nomor : 433/UN25.8.TL/2019  
Perihal : Izin Penelitian

11 DEC 2019

Kepada Yth  
Ketua Bagian Laboratorium Farmasetika  
Fakultas Farmasi Universitas Jember  
Di Jember

Dalam rangka pengumpulan data penelitian guna penyusunan skripsi maka, dengan hormat kami mohon bantuan dan kesediaannya untuk memberikan izin penelitian bagi mahasiswa kami dibawah ini:

1	Nama	: Qonita Nafilah Febi
2	NIM	: 161610101067
3	Semester/Tahun	: VII/2019/2020
4	Fakultas	: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
5	Alamat	: Perum. Taman Kampus blok C3 no.2, Jember
6	Judul Penelitian	: Uji Antibakteri dan Viskositas Gel Flavonoid Daun Tembakau Kasturi terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>
7	Lokasi Penelitian	: Laboratorium Farmasetika Fakultas Farmasi Universitas Jember
8	Data/alat yg dipinjam	: Preparasi Gel menggunakan carbopol 974p, propilen glikol, aquades, TEA
9	Waktu	: November 2019 s/d Selesai
10	Tujuan Penelitian	: Untuk membuat / mempreparasi sediaan gel flavonoid daun tembakau Kasturi
11	Dosen Pembimbing	: 1. Dr. drg. Banun Kusumawardani, M.Kes. 2. drg. Yani Corvianindya Rahayu, M.KG.

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih

  
an Dekan  
Wakil Dekan I,  
**Dr. drg. Muzni Novita, M.Kes., Sp. OF (K)**  
NIP. 196811251999032001/v



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
Jl. Kalimantan No. 37 Jember ☎(0331) 333536, Fak. 331991

Nomor : 7432/UN25.8.TL/2019  
Perihal : Izin Penelitian

11 DEC 2019

Kepada Yth  
Ketua Bagian Laboratorium Kimia Farmasi  
Fakultas Farmasi Universitas Jember  
Di Jember

Dalam rangka pengumpulan data penelitian guna penyusunan skripsi maka, dengan hormat kami mohon bantuan dan kesediaannya untuk memberikan izin penelitian bagi mahasiswa kami dibawah ini:

- |    |                       |  |
|----|-----------------------|--|
| 1  | Nama                  | : Qonita Nafilah Febi  |
| 2  | NIM                   | : 161610101067   |
| 3  | Semester/Tahun        | : VII/2019/2020  |
| 4  | Fakultas              | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember  |
| 5  | Alamat                | : Perum. Taman Kampus blok C3 no.2, Jember   |
| 6  | Judul Penelitian      | : Uji Antibakteri dan Viskositas Gel Flavonoid Daun Tembakau Kasturi terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> |
| 7  | Lokasi Penelitian     | : Laboratorium Kimia Dasar Fakultas Farmasi Universitas Jember   |
| 8  | Data/alat yg dipinjam | : Ekstraksi flavonoid daun tembakau Kasturi  |
| 9  | Waktu                 | : November 2019 s/d Selesai  |
| 10 | Tujuan Penelitian     | : Untuk mendapatkan ekstrak flavonoid daun tembakau Kasturi  |
| 11 | Dosen Pembimbing      | : 1. Dr. drg. Banun Kusumawardani, M.Kes.<br>2. drg. Yani Corvianindya Rahayu, M.K.G.  |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih.



**Dr. drg. Masniari Novita, M.Kes., Sp. OF (K)**  
NIP. 196811251999032001



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
Jl. Kalimantan No. 37 Jember ☎(0331) 333536, Fak. 331991

Nomor : 1433/UN25.8.TL/2019  
Perihal : Izin Penelitian

11 DEC 2019

Kepada Yth  
Ketua Bagian Laboratorium Kimia Farmasi  
Fakultas Farmasi Universitas Jember  
Di Jember

Dalam rangka pengumpulan data penelitian guna penyusunan skripsi maka, dengan hormat kami mohon bantuan dan kesediaannya untuk memberikan izin penelitian bagi mahasiswa kami dibawah ini:


- |    |                       |  |
|----|-----------------------|--|
| 1  | Nama                  | : Qonita Nafilah Febi  |
| 2  | NIM                   | : 161610101067   |
| 3  | Semester/Tahun        | : VII/2019/2020  |
| 4  | Fakultas              | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember  |
| 5  | Alamat                | : Perum. Taman Kampus blok C3 no.2, Jember   |
| 6  | Judul Penelitian      | : Uji Antibakteri dan Viskositas Gel Flavonoid Daun Tembakau Kasturi terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> |
| 7  | Lokasi Penelitian     | : Bagian Mikrobiologi Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember  |
| 8  | Data/alat yg dipinjam | : Uji antibakteri <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>   |
| 9  | Waktu                 | : November 2019 s/d Selesai  |
| 10 | Tujuan Penelitian     | : Untuk menguji daya antibakteri gel flavonoid daun tembakau Kasturi terhadap pertumbuhan bakteri <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> |
| 11 | Dosen Pembimbing      | : 3. Dr. drg. Banun Kusumawardani, M.Kes.<br>4. drg. Yani Corvianindya Rahayu, M.KG.   |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih.




**Dr. drg. Masniari Novita, M.Kes., Sp. OF (K)**  
NIP. 196811251999032001





DRUG UTILISATION & DISCOVERY  
RESEARCH GROUP



UNIVERSITAS  
JEMBER

Drug Utilisation and Discovery Research Group (DUDRG)  
Faculty of Pharmacy University of Jember  
Jalan Kalimantan 1/2 Kampus Tegalboto, Jember 68121, ID  
<http://drg.farmasi.unej.ac.id> | [arisatia@unej.ac.id](mailto:arisatia@unej.ac.id)

### SURAT PERMOHONAN IZIN MASUK LAB. RISET DUDRG

Kepada Koordinator Keris DUDRG  
Fakultas Farmasi Universitas Jember

Dengan hormat,  
Saya bermaksud mengajukan permohonan izin menggunakan Lab. Riset DUDRG untuk keperluan penelitian dengan keterangan sebagai berikut.

Periset: Qonita Nafilah Febi  
 Instansi: Fakultas Kedokteran Gigi  
 NIM: 161610101067  
 Judul Riset: Uji Antibakteri dan Viskositas Gel Flavonoid Daun Tembakau Kasturi terhadap Pertumbuhan Bakteri Aggregatibacter actinomycetemcomitans  
 Pembimbing: Dr. drg. Banun Kusumawardani, M.Kes.


Alasan pemohon menggunakan Lab. Riset DUDRG:\*

Join Research: ...

Lainnya: Penelitian Tugas Akhir

Demikian dan terima kasih atas kerja samanya.

Pembimbing




Dr. drg. Banun Kusumawardani, M.Kes


Jember, 11 Desember 2019  
Pemohon/Periset



... Qonita Nafilah F.



Template surat



Form izin masuk lab

\*silakan centang salah satu dan cantumkan judul atau keterangannya

Lampiran 2. *Ethical Clearance* Penelitian

 <b>KOMISI ETIKA PENELITIAN</b> <b>FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS GADJAH MADA</b> Sekretariat: Fakultas Kedokteran Gigi UGM Jl. Denta Sekip Utara Yogyakarta Telp. 061256447600	
<b>KETERANGAN KELAIKAN ETIK PENELITIAN</b> <b>("ETHICAL CLEARANCE")</b> No.001113/KKEP/FGK-UGM/EC/2017	
Setelah Tim Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada mempelajari dengan seksama rancangan penelitian yang diusulkan:	
Judul	: <b>POTENSI FLAVONOID DAUN TEMBAKAU KASTURI SEBAGAI AGEN ANTI-INFLAMASI DAN AGEN TERAPI PENYEMBUH LUKA PERIODONTAL (Penelitian eksperimental laboratoris <i>in vitro</i> dan <i>in vivo</i>)</b>
Peneliti Utama	: Dr. drg. Bazan Kusumawardani, M.Kes.
Anggota Penelitian	: 1. Endah Puspitasari, S.Farm., MSc., Apt 2. drg. Dwi Warna Aju Fatmawati, M.Kes
Penanggung Jawab Medis	: Dr. drg. Bazan Kusumawardani, M.Kes
Unit/Lembaga	: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
Lokasi Penelitian	: Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran UGM
Waktu Penelitian	: Juni 2017 – Selesai
Maka dengan ini menyatakan bahwa penelitian tersebut telah memenuhi syarat atau laik etik.	
Wakil Dekan Bidang Penelitian, Pengabdian Kepada Masyarakat dan Kerjasama  drg. Triana Wahyu Utami, MDSc., Ph.D	Yogyakarta, 15 Juni 2017 Ketua Komisi Etik Penelitian FKG UGM  Prof. Dr. drg. Pirandi Sri Pudyani, SU., Sp.Ort(K)

## Lampiran 3. Surat Keterangan Identifikasi Tanaman Tembakau Kasturi



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA  
(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)  
UPT BALAI KONSERVASI TUMBUHAN  
KEBUN RAYA PURWODADI

Jl. Raya Surabaya - Malang Km. 65 Purwodadi - Pasuruan 67163  
Telp. (+62 343) 615033, (+62 341) 426046, Faks. (+62 343) 615033, (+62 341) 426046  
website: <http://www.krpurwodadi.lipi.go.id>



## SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI

No.1207/IPH.6/HM/IX/2015

Kepala UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi dengan ini menerangkan bahwa material tanaman yang dibawa oleh :

**drg. Agustin Wulan Suci D, MDSC NIP : 197908142008122003**

Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, datang di UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi pada tanggal 10 September 2015, berdasarkan buku PROSEA ( Plants Resources of South-East Asia ) No 16; Stimulants, editor H.A.M. van der Vossen dan M. Wessel, tahun 2000, halaman 91 nama ilmiahnya adalah :

Genus : *Nicotiana*  
Species : *Nicotiana tabacum L.*

Adapun menurut buku An Integrated System of Classification of Flowering plants, karangan Arthur Cronquist tahun 1981, halaman XVII, klasifikasinya adalah sebagai berikut :

Divisio : *Magnoliophyta*  
Class : *Magnoliopsida*  
Subclass : *Asteridae*  
Ordo : *Solanales*  
Family : *Solanaceae*

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 14 September 2015  
An. Kepala  
Kepala Seksi Konservasi Ex-situ,



Deden Mudiana, S.Hut, M.Si

**Lampiran 4. Surat Identifikasi Bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans***



**RESEARCH CENTER**  
**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS AIRLANGGA**  
Jl. Mayjen Prof. Dr. Moestopo 47 Surabaya 60132 Telp. (031) 5030255, Fax (031) 5020256  
Website : <http://www.fkg.unair.ac.id> – E-mail : [fkkg@unair.ac.id](mailto:fkkg@unair.ac.id)

**SURAT PERNYATAAN**

Menerangkan bahwa stock *Aggregatibacters actinomycetemcomitans* yang diambil dari Laboratorium Mikrobiologi *Research Center* FKG Unair sudah terkarakterisasi sebagai *Aggregatibacters actinomycetemcomitans* melalui pemeriksaan pengecatan gram dan uji biokimiawi.



Surabaya, 16 Mei 2018  
Analis Research Center  
Eta Radhianto, A.Md  
NIP.198409262018013101

Penanggung Jawab :  
Dr. Retno Puji Rahayu, drg.,M.Kes.  
NIP. 195911141986032002

## Lampiran 5. Perhitungan Pengenceran Ekstrak Flavonoid Daun Tembakau Kasturi dan Kontrol

### Lampiran 5.1 Pengenceran DMSO 1%

Pengenceran DMSO 1% dilakukan dengan perhitungan sebagai berikut:

$$\begin{aligned} V1.N1 &= V2.N2 \\ V1.100\% &= 100 \text{ ml} \cdot 1\% \\ V1 &= 1 \text{ ml} \end{aligned}$$

Keterangan :

- V1 = Volume DMSO
- V2 = Volume total (aquades + DMSO)
- N1 = Konsentrasi DMSO murni = 100%
- N2 = Konsentrasi DMSO yang diinginkan = 1%
- Volume aquades = volume total - volume DMSO 1%
- Volume aquades = 100 ml - 1 ml
- Volume aquades = 99 ml

### Lampiran 5.2 Pelarutan Ekstrak Flavonoid Daun Tembakau Kasturi

Setelah dilakukan proses ekstraksi dan purifikasi didapatkan ekstrak flavonoid sebanyak 20 mg. Semua ekstrak yang didapat dilarutkan dalam 100 ml DMSO 1% sehingga diperoleh konsentrasi 0,2 mg/ml.

#### Lampiran 5.2.1 Pembuatan ekstrak flavonoid konsentrasi 4 mg/ml

Banyaknya ekstrak flavonoid 0,2 mg/ml untuk membuat ekstrak flavonoid 4 mg/ml :

$$\begin{aligned} V1.N1 &= V2.N2 \\ V1.0,2 \text{ mg/ml} &= 1 \text{ ml} \cdot 4 \text{ mg/ml} \\ V1 &= 4 \text{ mg} : 0,2 \text{ mg/ml} \\ V1 &= 20 \text{ ml.} \end{aligned}$$

Sebanyak 20 ml larutan ekstrak flavonoid dicampurkan dalam basis gel untuk mendapatkan gel ekstrak flavonoid daun tembakau Kasturi konsentrasi 4 mg/ml.

**Lampiran 5.2.2 Pembuatan ekstrak flavonoid konsentrasi 2 mg/ml**

Banyaknya ekstrak flavonoid 0,2 mg/ml untuk membuat ekstrak flavonoid 2 mg/ml :

$$\begin{aligned} V1.N1 &= V2.N2 \\ V1. 0,2 \text{ mg/ml} &= 1 \text{ ml} . 2 \text{ mg/ml} \\ V1 &= 2 \text{ mg} : 0,2 \text{ mg/ml} \\ V1 &= 10 \text{ ml.} \end{aligned}$$

Sebanyak 10 ml larutan ekstrak flavonoid dicampurkan dalam basis gel untuk mendapatkan gel ekstrak flavonoid daun tembakau Kasturi konsentrasi 2 mg/ml.

**Lampiran 5.2.3 Pembuatan ekstrak flavonoid konsentrasi 1 mg/ml**

Banyaknya ekstrak flavonoid 0,2 mg/ml untuk membuat ekstrak flavonoid 1 mg/ml :

$$\begin{aligned} V1.N1 &= V2.N2 \\ V1. 0,2 \text{ mg/ml} &= 1 \text{ ml} . 1 \text{ mg/ml} \\ V1 &= 1 \text{ mg} : 0,2 \text{ mg/ml} \\ V1 &= 5 \text{ ml.} \end{aligned}$$

Sebanyak 5 ml larutan ekstrak flavonoid dicampurkan dalam basis gel untuk mendapatkan gel ekstrak flavonoid daun tembakau Kasturi konsentrasi 1 mg/ml.

**Lampiran 5.2.4 Pembuatan ekstrak flavonoid konsentrasi 0,5 mg/ml**

Banyaknya ekstrak flavonoid 0,2 mg/ml untuk membuat ekstrak flavonoid 0,5 mg/ml :

$$\begin{aligned} V1.N1 &= V2.N2 \\ V1. 0,2 \text{ mg/ml} &= 1 \text{ ml} . 0,5 \text{ mg/ml} \\ V1 &= 0,5 \text{ mg} : 0,2 \text{ mg/ml} \\ V1 &= 2,5 \text{ ml.} \end{aligned}$$

Sebanyak 2,5 ml larutan ekstrak flavonoid dicampurkan dalam basis gel untuk mendapatkan gel ekstrak flavonoid daun tembakau Kasturi konsentrasi 0,5 mg/ml.

**Lampiran 5.2.5 Pembuatan ekstrak flavonoid konsentrasi 0,25 mg/ml**

Banyaknya ekstrak flavonoid 0,2 mg/ml untuk membuat ekstrak flavonoid 0,25 mg/ml :

$$\begin{aligned}V1.N1 &= V2.N2 \\V1. 0,2 \text{ mg/ml} &= 1 \text{ ml} . 0,25 \text{ mg/ml} \\V1 &= 0,25 \text{ mg} : 0,2 \text{ mg/ml} \\V1 &= 1,25 \text{ ml}.\end{aligned}$$

Sebanyak 1,25 ml larutan ekstrak flavonoid dicampurkan dalam basis gel untuk mendapatkan gel ekstrak flavonoid daun tembakau Kasturi konsentrasi 0,25 mg/ml.

**Lampiran 5.3 Pelarutan Metronidazole Bubuk Standar**

Larutan basis gel dengan komposisi *Carbopol 974P*, *propylen glycol*, TEA, dan aquades (1:5:5:90) dicampur dan diaduk. Kemudian berat total gel ditimbang menghasilkan sebesar 85,02 gr.

Berat total gel = 85,02 gr

$$\begin{aligned}\rightarrow 2\% \times \text{berat total gel} \\&= 2\% \times 85,02 \\&= 1,7 \text{ g}\end{aligned}$$

Jumlah metronidazole bubuk standar yang dicampurkan ke dalam basis gel sebanyak 1,7 g.

**Lampiran 5.4 Pelarutan Quercetin Bubuk Standar**

Sebanyak 20 mg quercetin bubuk dilarutkan dalam 100 ml DMSO 1% sehingga diperoleh konsentrasi 0,2 mg/ml.

**Lampiran 5.4.1 Pembuatan gel quercetin konsentrasi 0,05 mg/ml**

Banyaknya larutan quercetin 0,2 mg/ml untuk membuat quercetin konsentrasi 0,05 mg/ml :

$$\begin{aligned} V1.N1 &= V2.N2 \\ V1. 0,2 \text{ mg/ml} &= 1 \text{ ml} . 0,05 \text{ mg/ml} \\ V1 &= 0,05 \text{ mg} : 0,2 \text{ mg/ml} \\ V1 &= 0,25 \text{ ml.} \end{aligned}$$

Sebanyak 0,25 ml larutan quercetin dicampurkan dalam basis gel untuk mendapatkan gel quercetin konsentrasi 0,05 mg/ml.

**Lampiran 5.5 Pembuatan gel DMSO 1 %**

Larutan basis gel dengan komposisi *Carbopol 974P*, *propylen glycol*, TEA, dan aquades (1:5:5:90) dicampur dan diaduk. Kemudian berat total gel ditimbang menghasilkan sebesar 85 gr.

$$\begin{aligned} \text{Berat gel} &= 85 \text{ gr} \\ \rightarrow 1\% \times \text{berat total gel} \\ &= 1\% \times 85 \\ &= 0,85 \text{ g} = \text{berat DMSO yang diinginkan} \end{aligned}$$







Karena DMSO berupa larutan murni dengan satuan volume, maka volume DMSO yang diambil adalah :


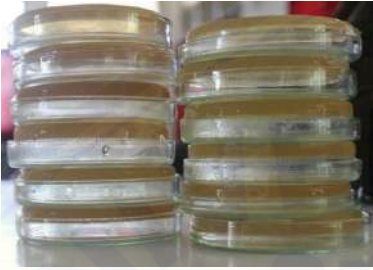



$$\begin{aligned} &\frac{\text{Berat DMSO yang diinginkan}}{\text{Massa jenis DMSO}} \\ &= \frac{0,85 \text{ g}}{1,1 \text{ g/ml}} \\ &= 0,7 \text{ ml} \end{aligned}$$

Jumlah larutan DMSO murni yang dicampurkan ke dalam basis gel sebanyak 0,7 ml.



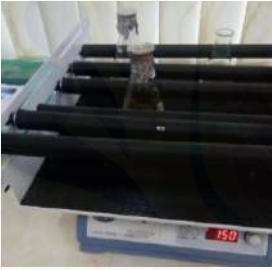










## Lampiran 6. Alat dan Bahan Penelitian

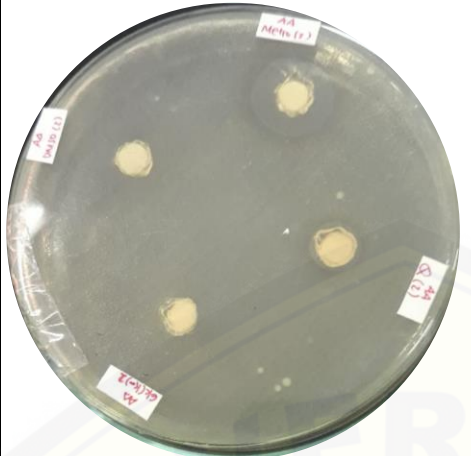
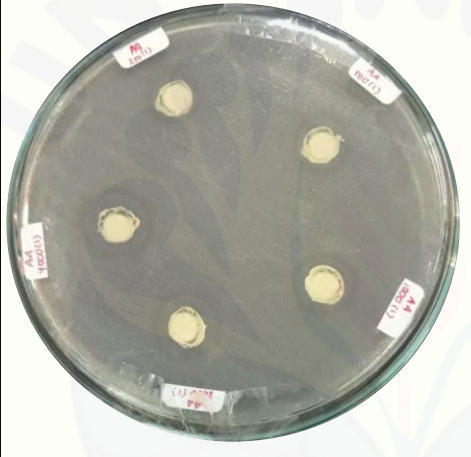
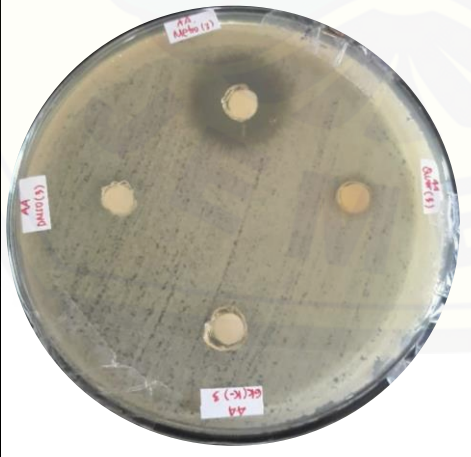
No	Gambar	Keterangan
1		Daun tembakau Kasturi kering
2		Blender
3		Serbuk daun tembakau Kasturi
4		Neraca analitik
5		Bahan gel ( <i>Carbopol 940, propylen glycol, Triethanolamine (TEA), aquades</i> )
6		DMSO

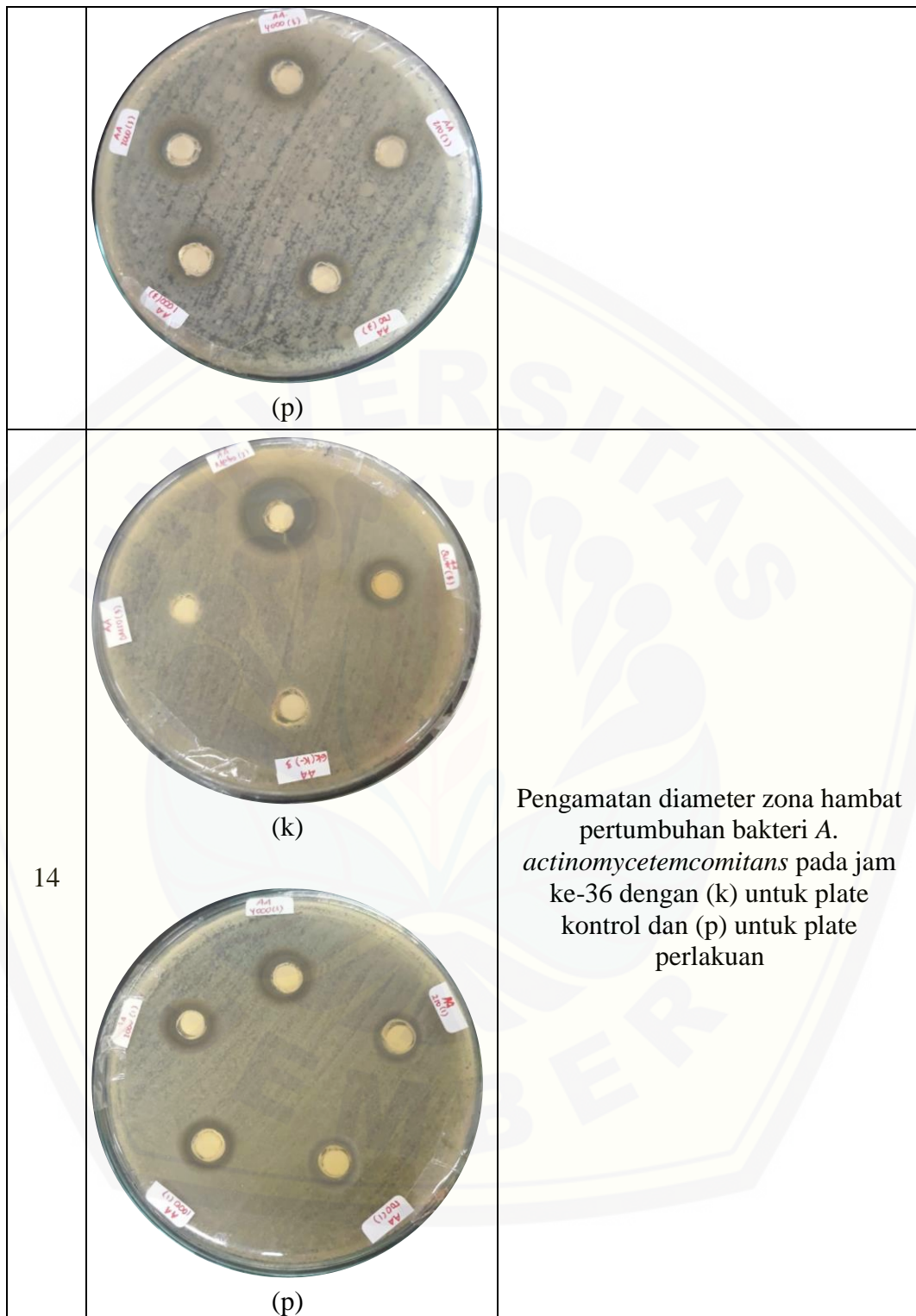
7		Metronidazol
8		Media BHIA
9		Kertas cakram
10		HCl 10%
11		Metanol, n-heksana, dan etil asetat.

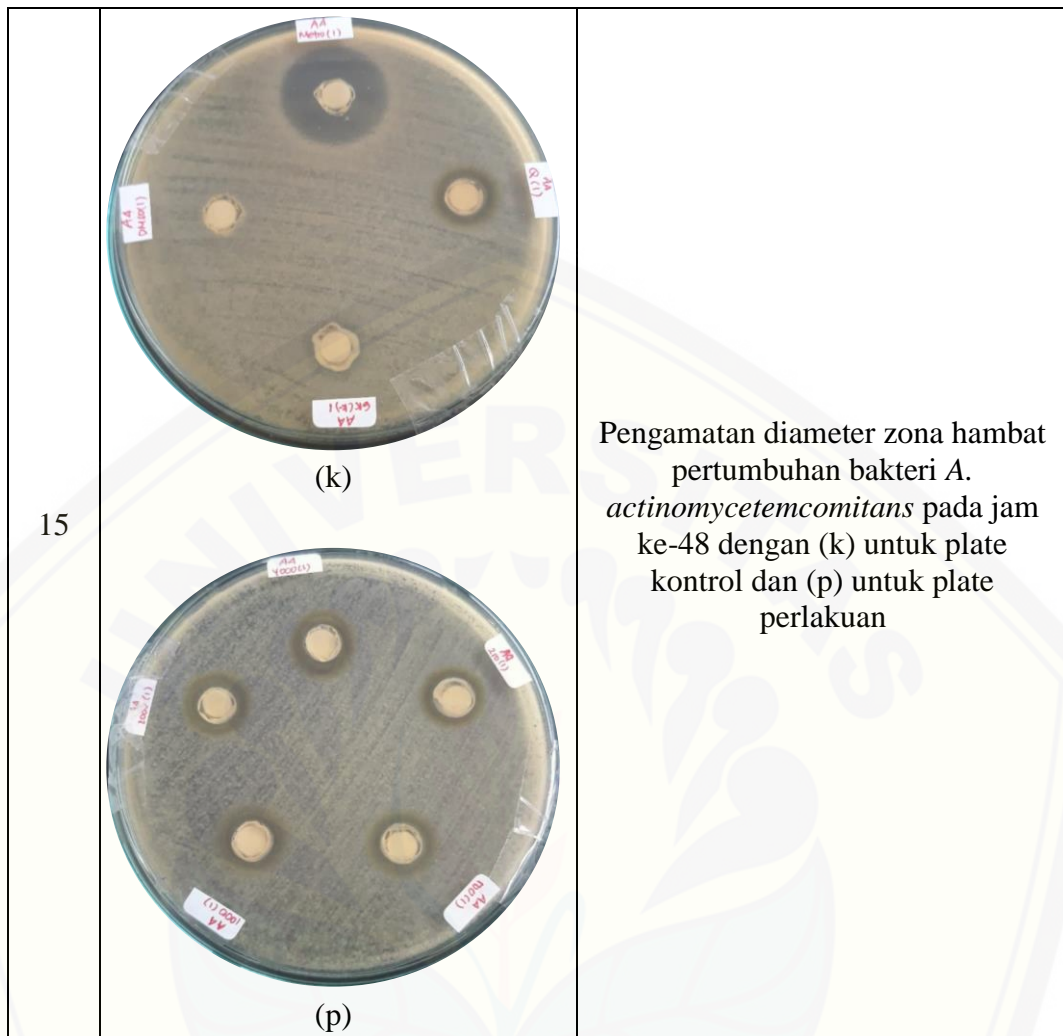
## Lampiran 7. Dokumentasi Prosedur Penelitian

No	Gambar	Keterangan
1		Penghalusan daun tembakau Kasturi kering menggunakan blender
2		Pemberian metanol pada serbuk halus daun tembakau Kasturi
3		Pengadukan dengan orbital shaker
4		Penyaringan ekstrak
5		Tahapan pemberian n-heksana

6		Proses evaporasi dengan <i>rotary evaporator</i>
7		Pengenceran flavonoid dengan DMSO 1%
8		Preparasi gel flavonoid daun tembakau Kasturi dengan komposisi <i>Carbopol 974P</i> , <i>propylen glicol</i> , TEA, dan <i>aquades</i> (1:5:5:90)
9		Uji aktivitas antibakteri gel flavonoid daun tembakau Kasturi terhadap bakteri <i>A. actinomycetemcomitans</i> dengan metode <i>disc diffusion</i>
10		Pengukuran zona hambat dengan jangka sorong
11		Uji viskositas gel flavonoid daun tembakau Kasturi menggunakan viskometer <i>brooksfeld</i> dengan <i>spindle 64</i>

12	 <p>(k)</p>  <p>(p)</p>	<p>Pengamatan diameter zona hambat pertumbuhan bakteri <i>A. actinomycetemcomitans</i> pada jam ke-12 dengan (k) untuk plate kontrol dan (p) untuk plate perlakuan</p>
13	 <p>(k)</p>	<p>Pengamatan diameter zona hambat pertumbuhan bakteri <i>A. actinomycetemcomitans</i> pada jam ke-24 dengan (k) untuk plate kontrol dan (p) untuk plate perlakuan</p>





**Lampiran 8. Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Bakteri  
*Aggregatibacter actinomycetemcomitans***

Kelompok	Cakram	12 JAM		Rata-rata (mm)
		Pengamat 1 (mm)	Pengamat 2 (mm)	
K1 (Kontrol negatif 1 – basis gel)	1	6,00	6,00	6,00
	2	6,00	6,00	6,00
	3	6,00	6,00	6,00
	4	6,00	6,00	6,00
K2 (Kontrol negatif 2 – gel DMSO 1%)	1	6,00	6,00	6,00
	2	6,00	6,00	6,00
	3	6,00	6,00	6,00
	4	6,00	6,00	6,00
K3 (Kontrol Positif 1 – gel metronidazol 2%)	1	17,01	16,09	17,00
	2	17,29	16,83	17,06
	3	18,34	17,50	17,92
	4	17,70	17,42	17,56
K4 (Kontrol Positif 2 – gel quercetin 0,05 mg/ml)	1	7,25	6,75	7,00
	2	9,70	9,78	9,74
	3	9,14	9,00	9,07
	4	10,00	10,02	10,01
F1 (gel flavonoid 4 mg/ml)	1	9,00	9,00	9,00
	2	11,45	11,40	11,43
	3	11,50	11,14	11,32
	4	12,00	11,28	11,64
F2 (gel flavonoid 2 mg/ml)	1	8,00	8,00	8,00
	2	11,00	10,96	10,98
	3	10,24	10,50	10,37
	4	10,82	10,50	10,66
F3 (gel flavonoid 1 mg/ml)	1	7,00	7,30	7,15
	2	10,00	10,76	10,38
	3	9,50	9,60	9,55
	4	9,08	9,30	9,19
F4 (gel flavonoid 0,5 mg/ml)	1	6,90	6,90	6,90
	2	9,12	9,20	9,16
	3	8,76	9,00	8,88
	4	8,65	8,65	8,65
F5 (gel flavonoid 0,25 mg/ml)	1	6,8	6,8	6,8
	2	8,28	8,00	8,14
	3	8,30	8,28	8,29
	4	8,32	8,30	8,31



<b>24 JAM</b>				
Kelompok	Cakram	Pengamat 1 (mm)	Pengamat 2 (mm)	Rata-rata (mm)
K1 (Kontrol negatif 1 – basis gel)	1	6,00	6,00	6,00
	2	6,00	6,00	6,00
	3	6,00	6,00	6,00
	4	6,00	6,00	6,00
K2 (Kontrol negatif 2 – gel DMSO 1%)	1	6,00	6,00	6,00
	2	6,00	6,00	6,00
	3	6,00	6,00	6,00
	4	6,00	6,00	6,00
K3 (Kontrol Positif 1 – gel metronidazol 2%)	1	18,70	18,70	18,70
	2	18,00	17,80	17,90
	3	18,00	18,00	18,00
	4	19,52	19,00	19,26
K4 (Kontrol Positif 2 – gel quercetin 0,05 mg/ml)	1	7,70	7,70	7,70
	2	7,70	7,50	7,60
	3	7,80	7,80	7,80
	4	7,85	7,65	7,75
F1 (gel flavonoid 4 mg/ml)	1	11,00	11,20	11,10
	2	10,00	10,10	10,05
	3	10,12	10,20	10,16
	4	10,08	10,40	10,24
F2 (gel flavonoid 2 mg/ml)	1	9,50	9,30	9,40
	2	10,00	10,00	10,00
	3	9,10	9,00	9,05
	4	10,00	9,80	9,90
F3 (gel flavonoid 1 mg/ml)	1	8,60	8,30	8,30
	2	8,86	8,70	8,78
	3	8,60	8,60	8,60
	4	8,50	8,40	8,45
F4 (gel flavonoid 0,5 mg/ml)	1	8,80	8,80	8,80
	2	8,40	8,20	8,30
	3	8,30	8,18	8,24
	4	8,40	8,30	8,35
F5 (gel flavonoid 0,25 mg/ml)	1	7,57	7,23	7,4
	2	7,70	7,70	7,7
	3	7,80	7,66	7,73
	4	8,00	7,90	7,95

<b>36 JAM</b>				
Kelompok	Cakram	Pengamat 1 (mm)	Pengamat 2 (mm)	Rata-rata (mm)
K1 (Kontrol negatif 1 – basis gel)	1	6,00	6,00	6,00
	2	6,00	6,00	6,00
	3	6,00	6,00	6,00
	4	6,00	6,00	6,00
K2 (Kontrol negatif 2 – gel DMSO 1%)	1	6,00	6,00	6,00
	2	6,00	6,00	6,00
	3	6,00	6,00	6,00
	4	6,00	6,00	6,00
K3 (Kontrol Positif 1 – gel metronidazol 2%)	1	18,70	18,70	18,70
	2	20,00	19,94	19,97
	3	19,30	19,00	19,15
	4	19,80	19,78	19,79
K4 (Kontrol Positif 2 – gel quercetin 0,05 mg/ml)	1	10,50	10,70	10,60
	2	10,20	10,26	10,23
	3	9,47	9,63	9,55
	4	9,40	9,40	9,40
F1 (gel flavonoid 4 mg/ml)	1	14,00	14,20	14,10
	2	10,50	10,80	10,65
	3	10,34	10,40	10,37
	4	10,10	10,14	10,12
F2 (gel flavonoid 2 mg/ml)	1	10,10	10,10	10,10
	2	11,00	10,60	10,80
	3	9,15	9,05	9,10
	4	9,36	9,33	9,33
F3 (gel flavonoid 1 mg/ml)	1	10,00	9,80	9,90
	2	8,74	8,70	8,72
	3	8,90	8,86	8,88
	4	9,08	9,00	9,04
F4 (gel flavonoid 0,5 mg/ml)	1	9,20	9,20	9,20
	2	8,00	8,40	8,20
	3	8,13	8,31	8,22
	4	8,83	8,85	8,84
F5 (gel flavonoid 0,25 mg/ml)	1	9,20	9,20	9,20
	2	8,00	7,98	7,99
	3	7,98	7,98	7,98
	4	8,06	8,20	8,13

<b>48 JAM</b>				
Kelompok	Cakram	Pengamat 1 (mm)	Pengamat 2 (mm)	Rata-rata (mm)
K1 (Kontrol negatif 1 – basis gel)	1	6,00	6,00	6,00
	2	6,00	6,00	6,00
	3	6,00	6,00	6,00
	4	6,00	6,00	6,00
K2 (Kontrol negatif 2 – gel DMSO 1%)	1	6,00	6,00	6,00
	2	6,00	6,00	6,00
	3	6,00	6,00	6,00
	4	6,00	6,00	6,00
K3 (Kontrol Positif 1 – gel metronidazol 2%)	1	18,70	18,70	18,70
	2	19,96	19,93	19,93
	3	20,00	19,84	19,92
	4	20,05	20,01	20,03
K4 (Kontrol Positif 2 – gel quercetin 0,05 mg/ml)	1	10,60	11,00	10,80
	2	8,50	9,32	8,91
	3	8,66	8,70	8,68
	4	8,66	8,50	8,58
F1 (gel flavonoid 4 mg/ml)	1	14,10	14,10	14,10
	2	10,94	10,76	10,85
	3	10,42	10,10	10,26
	4	10,20	10,16	10,18
F2 (gel flavonoid 2 mg/ml)	1	10,40	10,40	10,40
	2	10,95	10,91	10,93
	3	9,10	9,06	9,08
	4	9,20	9,02	9,11
F3 (gel flavonoid 1 mg/ml)	1	10,15	10,25	10,2
	2	8,69	8,81	8,75
	3	8,73	8,75	8,74
	4	8,74	8,74	8,74
F4 (gel flavonoid 0,5 mg/ml)	1	10,00	10,00	10,00
	2	8,09	8,41	8,25
	3	8,16	8,30	8,23
	4	8,58	8,60	8,59
F5 (gel flavonoid 0,25 mg/ml)	1	8,98	9,32	9,15
	2	7,50	8,18	7,84
	3	7,72	8,00	7,86
	4	8,04	8,04	8,04

**Lampiran 9. Hasil Uji Statistika Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans***

**Lampiran 9.1 Uji daya hambat pada bakteri *A.actinomycetemcomitans* berdasarkan kelompok konsentrasi**

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

N		Jam12	Jam24	Jam36	Jam48	
		36	36	36	36	
Normal Parameters <sup>a,b</sup>		Mean	3,0452	,1220	,1145	,1153
		Std. Deviation	,56767	,03354	,03512	,03522
Most Extreme Differences		Absolute	,149	,165	,156	,150
		Positive	,149	,137	,156	,142
		Negative	-,147	-,165	-,154	-,150
Kolmogorov-Smirnov Z		,891	,990	,939	,899	
Asymp. Sig. (2-tailed)		,405	,280	,341	,394	

**Multivariate Tests<sup>a</sup>**

Effect		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.	Noncent. Parameter	Observed Power <sup>d</sup>
Kelompok	Pillai's Trace	2,098	3,724	32,000	108,000	,000	119,161	1,000
	Wilks' Lambda	,000	29,775	32,000	90,103	,000	771,380	1,000
	Hotelling's Trace	1346,980	947,095	32,000	90,000	,000	30307,043	1,000
	Roy's Largest Root	1343,349	4533,804 <sup>c</sup>	8,000	27,000	,000	36270,429	1,000

**Levene's Test of Equality of Error Variances<sup>a</sup>**

	F	df1	df2	Sig.
Jamke12	2,480	8	27	,037
Jamke24	2,882	8	27	,019
Jamke36	4,753	8	27	,001
Jamke48	3,794	8	27	,004

**Tests of Between-Subjects Effects**

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Noncent. Parameter	Observed Power <sup>e</sup>
Kelompok	Jamke12	494,490	8	61,811	63,566	,000	508,531	1,000
	Jamke24	563,512	8	70,439	898,245	,000	7185,961	1,000
	Jamke36	577,146	8	72,143	106,160	,000	849,278	1,000
	Jamke48	589,233	8	73,654	88,648	,000	709,181	1,000

Multiple Comparisons								
Dependent Variable	(I) Konsentrasi	(J) Konsentrasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
						Lower Bound	Upper Bound	
Jamke12	Games-Howell	1,00	2,00	,8450	,91806	,982	-3,2700	4,9600
			3,00	1,7788	,92348	,624	-2,3637	5,9212
			4,00	2,4500	,80100	,216	-1,1782	6,0782
			5,00	2,9613	,71738	,092	-,5364	6,4589
			6,00	4,8450*	,61855	,030	,8313	8,8587
			7,00	4,8450*	,61855	,030	,8313	8,8587
			8,00	-8,2887*	,63536	,004	-12,1136	-4,4639
			9,00	1,8925	,91942	,561	-2,2294	6,0144
			2,00	1,00	-,8450	,91806	,982	-4,9600
		3,00		,9337	,96459	,976	-3,3765	5,2440
		4,00		1,6050	,84807	,642	-2,2949	5,5049
		5,00		2,1163	,76958	,323	-1,7342	5,9667
		6,00		4,0000	,67840	,065	-,4020	8,4020
		7,00		4,0000	,67840	,065	-,4020	8,4020
		8,00		-9,1338*	,69375	,005	-13,3584	-4,9091
		9,00		1,0475	,96071	,956	-3,2453	5,3403
		3,00		1,00	-1,7788	,92348	,624	-5,9212
			2,00	-,9337	,96459	,976	-5,2440	3,3765
			4,00	,6713	,85394	,993	-3,2638	4,6063
			5,00	1,1825	,77604	,810	-2,7122	5,0772
			6,00	3,0663	,68572	,132	-1,3833	7,5158
			7,00	3,0663	,68572	,132	-1,3833	7,5158
			8,00	-10,0675*	,70091	,004	-14,3410	-5,7940
			9,00	,1137	,96589	1,000	-4,2023	4,4298
			4,00	1,00	-2,4500	,80100	,216	-6,0782
		2,00		-1,6050	,84807	,642	-5,5049	2,2949
		3,00		-,6713	,85394	,993	-4,6063	3,2638
		5,00		,5112	,62533	,990	-2,3932	3,4157
		6,00		2,3950	,50892	,116	-,9073	5,6973
		7,00		2,3950	,50892	,116	-,9073	5,6973
		8,00		-10,7388*	,52922	,001	-13,8296	-7,6479
		9,00		-,5575	,84955	,998	-4,4663	3,3513
		5,00		1,00	-2,9613	,71738	,092	-6,4589
			2,00	-2,1163	,76958	,323	-5,9667	1,7342
			3,00	-1,1825	,77604	,810	-5,0772	2,7122

			4,00	-,5112	,62533	,990	-3,4157	2,3932
			6,00	1,8838	,36336	,091	-,4740	4,2415
			7,00	1,8838	,36336	,091	-,4740	4,2415
			8,00	-11,2500*	,39128	,000	-13,3731	-9,1269
			9,00	-1,0688	,77121	,864	-4,9304	2,7929
		6,00	1,00	-4,8450*	,61855	,030	-8,8587	-,8313
		6,00	2,00	-4,0000	,67840	,065	-8,4020	,4020
		6,00	3,00	-3,0663	,68572	,132	-7,5158	1,3833
		6,00	4,00	-2,3950	,50892	,116	-5,6973	,9073
		6,00	5,00	-1,8838	,36336	,091	-4,2415	,4740
		6,00	7,00	,0000	,00000	.	,0000	,0000
		6,00	8,00	-13,1338*	,14516	,000	-14,0757	-12,1918
		6,00	9,00	-2,9525	,68025	,142	-7,3665	1,4615
		7,00	1,00	-4,8450*	,61855	,030	-8,8587	-,8313
		7,00	2,00	-4,0000	,67840	,065	-8,4020	,4020
		7,00	3,00	-3,0663	,68572	,132	-7,5158	1,3833
		7,00	4,00	-2,3950	,50892	,116	-5,6973	,9073
		7,00	5,00	-1,8838	,36336	,091	-4,2415	,4740
		7,00	6,00	,0000	,00000	.	,0000	,0000
		7,00	8,00	-13,1338*	,14516	,000	-14,0757	-12,1918
		7,00	9,00	-2,9525	,68025	,142	-7,3665	1,4615
		8,00	1,00	8,2887*	,63536	,004	4,4639	12,1136
		8,00	2,00	9,1338*	,69375	,005	4,9091	13,3584
		8,00	3,00	10,0675*	,70091	,004	5,7940	14,3410
		8,00	4,00	10,7388*	,52922	,001	7,6479	13,8296
		8,00	5,00	11,2500*	,39128	,000	9,1269	13,3731
		8,00	6,00	13,1338*	,14516	,000	12,1918	14,0757
		8,00	7,00	13,1338*	,14516	,000	12,1918	14,0757
		8,00	9,00	10,1812*	,69556	,003	5,9442	14,4183
		9,00	1,00	-1,8925	,91942	,561	-6,0144	2,2294
		9,00	2,00	-1,0475	,96071	,956	-5,3403	3,2453
		9,00	3,00	-,1137	,96589	1,000	-4,4298	4,2023
		9,00	4,00	,5575	,84955	,998	-3,3513	4,4663
		9,00	5,00	1,0688	,77121	,864	-2,7929	4,9304
		9,00	6,00	2,9525	,68025	,142	-1,4615	7,3665
		9,00	7,00	2,9525	,68025	,142	-1,4615	7,3665
		9,00	8,00	-10,1812*	,69556	,003	-14,4183	-5,9442
Jamke	Games-	1,00	2,00	1,0362	,30651	,179	-,4622	2,5347

24	Howell		3,00	1,3550	,28381	,078	-,2004	2,9104
			4,00	1,7150*	,29337	,032	,1966	3,2334
			5,00	2,1913*	,28805	,014	,6551	3,7274
			6,00	3,8863*	,26495	,005	2,1670	5,6055
			7,00	3,8863*	,26495	,005	2,1670	5,6055
			8,00	-9,9825*	,33448	,000	-11,5131	-8,4519
			9,00	2,1738*	,26837	,024	,4964	3,8511
		2,00	1,00	-1,0362	,30651	,179	-2,5347	,4622
			3,00	,3188	,18467	,721	-,5546	1,1921
			4,00	,6788	,19904	,151	-,2237	1,5812
			5,00	1,1550*	,19112	,015	,2723	2,0377
			6,00	2,8500*	,15411	,002	1,8500	3,8500
			7,00	2,8500*	,15411	,002	1,8500	3,8500
			8,00	-11,0187*	,25579	,000	-12,1936	-9,8439
		3,00	1,00	-1,3550	,28381	,078	-2,9104	,2004
			2,00	-,3188	,18467	,721	-1,1921	,5546
			4,00	,3600	,16193	,488	-,3754	1,0954
			5,00	,8362*	,15207	,020	,1540	1,5185
			6,00	2,5313*	,10174	,001	1,8711	3,1914
			7,00	2,5313*	,10174	,001	1,8711	3,1914
			8,00	-11,3375*	,22810	,000	-12,5024	-10,1726
		4,00	1,00	,8187*	,11034	,016	,2277	1,4098
			1,00	-1,7150*	,29337	,032	-3,2334	-,1966
			2,00	-,6788	,19904	,151	-1,5812	,2237
			3,00	-,3600	,16193	,488	-1,0954	,3754
			5,00	,4763	,16924	,274	-,2832	1,2357
			6,00	2,1713*	,12597	,003	1,3539	2,9886
			7,00	2,1713*	,12597	,003	1,3539	2,9886
		5,00	8,00	-11,6975*	,23988	,000	-12,8517	-10,5433
			9,00	,4588	,13301	,208	-,2919	1,2094
			1,00	-2,1913*	,28805	,014	-3,7274	-,6551
			2,00	-1,1550*	,19112	,015	-2,0377	-,2723
			3,00	-,8362*	,15207	,020	-1,5185	-,1540
			4,00	-,4763	,16924	,274	-1,2357	,2832
			6,00	1,6950*	,11303	,005	,9616	2,4284
		7,00	1,6950*	,11303	,005	,9616	2,4284	
		8,00	-12,1737*	,23335	,000	-13,3304	-11,0171	

			9,00	-,0175	,12082	1,000	-,6823	,6473
		6,00	1,00	-3,8863*	,26495	,005	-5,6055	-2,1670
			2,00	-2,8500*	,15411	,002	-3,8500	-1,8500
			3,00	-2,5313*	,10174	,001	-3,1914	-1,8711
			4,00	-2,1713*	,12597	,003	-2,9886	-1,3539
			5,00	-1,6950*	,11303	,005	-2,4284	-,9616
			7,00	,0000	,00000	.	,0000	,0000
			8,00	-13,8687*	,20415	,000	-15,1934	-12,5441
			9,00	-1,7125*	,04270	,000	-1,9895	-1,4355
			7,00	1,00	-3,8863*	,26495	,005	-5,6055
		2,00		-2,8500*	,15411	,002	-3,8500	-1,8500
		3,00		-2,5313*	,10174	,001	-3,1914	-1,8711
		4,00		-2,1713*	,12597	,003	-2,9886	-1,3539
		5,00		-1,6950*	,11303	,005	-2,4284	-,9616
		6,00		,0000	,00000	.	,0000	,0000
		8,00		-13,8687*	,20415	,000	-15,1934	-12,5441
		9,00		-1,7125*	,04270	,000	-1,9895	-1,4355
		8,00		1,00	9,9825*	,33448	,000	8,4519
			2,00	11,0187*	,25579	,000	9,8439	12,1936
			3,00	11,3375*	,22810	,000	10,1726	12,5024
			4,00	11,6975*	,23988	,000	10,5433	12,8517
			5,00	12,1737*	,23335	,000	11,0171	13,3304
			6,00	13,8687*	,20415	,000	12,5441	15,1934
			7,00	13,8687*	,20415	,000	12,5441	15,1934
			9,00	12,1562*	,20857	,000	10,8829	13,4296
			9,00	1,00	-2,1738*	,26837	,024	-3,8511
		2,00		-1,1375*	,15992	,028	-2,0762	-,1988
		3,00		-,8187*	,11034	,016	-1,4098	-,2277
		4,00		-,4588	,13301	,208	-1,2094	,2919
		5,00		,0175	,12082	1,000	-,6473	,6823
		6,00		1,7125*	,04270	,000	1,4355	1,9895
		7,00		1,7125*	,04270	,000	1,4355	1,9895
		8,00		-12,1562*	,20857	,000	-13,4296	-10,8829
Jamke36	Games- Howell	1,00		2,00	1,7263	1,06193	,764	-4,5300
			3,00	1,9262	1,05849	,684	-4,3595	8,2120
			4,00	2,4450	1,05390	,493	-3,8821	8,7721
			5,00	2,7350	1,06638	,410	-3,4851	8,9551
			6,00	5,0575	1,02493	,103	-1,5931	11,7081



			7,00	5,0575	1,02493	,103	-1,5931	11,7081
			8,00	-9,2100*	1,07467	,013	-15,3680	-3,0520
			9,00	1,1137	1,06326	,954	-5,1315	7,3590
		2,00	1,00	-1,7263	1,06193	,764	-7,9825	4,5300
			3,00	,2000	,38361	1,000	-1,5157	1,9157
			4,00	,7188	,37076	,618	-,9472	2,3847
			5,00	1,0087	,40486	,377	-,8025	2,8200
			6,00	3,3312*	,27790	,009	1,5280	5,1345
			7,00	3,3312*	,27790	,009	1,5280	5,1345
			8,00	-10,9363*	,42623	,000	-12,8565	-9,0160
			9,00	-,6125	,39657	,805	-2,3847	1,1597
			3,00	1,00	-1,9262	1,05849	,684	-8,2120
		2,00		-,2000	,38361	1,000	-1,9157	1,5157
		4,00		,5188	,36079	,850	-1,0967	2,1342
		5,00		,8088	,39575	,568	-,9670	2,5845
		6,00		3,1313*	,26444	,009	1,4153	4,8472
		7,00		3,1313*	,26444	,009	1,4153	4,8472
		8,00		-11,1362*	,41758	,000	-13,0292	-9,2433
		9,00		-,8125	,38726	,542	-2,5458	,9208
		4,00	1,00	-2,4450	1,05390	,493	-8,7721	3,8821
			2,00	-,7188	,37076	,618	-2,3847	,9472
			3,00	-,5188	,36079	,850	-2,1342	1,0967
			5,00	,2900	,38330	,994	-1,4432	2,0232
			6,00	2,6125*	,24543	,012	1,0199	4,2051
			7,00	2,6125*	,24543	,012	1,0199	4,2051
			8,00	-11,6550*	,40581	,000	-13,5169	-9,7931
			9,00	-1,3313	,37453	,128	-3,0171	,3546
		5,00	1,00	-2,7350	1,06638	,410	-8,9551	3,4851
			2,00	-1,0087	,40486	,377	-2,8200	,8025
			3,00	-,8088	,39575	,568	-2,5845	,9670
			4,00	-,2900	,38330	,994	-2,0232	1,4432
			6,00	2,3225*	,29442	,029	,4120	4,2330
			7,00	2,3225*	,29442	,029	,4120	4,2330
			8,00	-11,9450*	,43718	,000	-13,9047	-9,9853
			9,00	-1,6212	,40832	,082	-3,4468	,2043
		6,00	1,00	-5,0575	1,02493	,103	-11,7081	1,5931
			2,00	-3,3312*	,27790	,009	-5,1345	-1,5280
			3,00	-3,1313*	,26444	,009	-4,8472	-1,4153

			4,00	-2,6125*	,24543	,012	-4,2051	-1,0199		
			5,00	-2,3225*	,29442	,029	-4,2330	-,4120		
			7,00	,0000	,00000	.	,0000	,0000		
			8,00	-14,2675*	,32318	,000	-16,3646	-12,1704		
			9,00	-3,9437*	,28291	,006	-5,7795	-2,1080		
		7,00	1,00	-5,0575	1,02493	,103	-11,7081	1,5931		
			2,00	-3,3312*	,27790	,009	-5,1345	-1,5280		
			3,00	-3,1313*	,26444	,009	-4,8472	-1,4153		
			4,00	-2,6125*	,24543	,012	-4,2051	-1,0199		
			5,00	-2,3225*	,29442	,029	-4,2330	-,4120		
			6,00	,0000	,00000	.	,0000	,0000		
			8,00	-14,2675*	,32318	,000	-16,3646	-12,1704		
			9,00	-3,9437*	,28291	,006	-5,7795	-2,1080		
		8,00	1,00	9,2100*	1,07467	,013	3,0520	15,3680		
			2,00	10,9363*	,42623	,000	9,0160	12,8565		
			3,00	11,1362*	,41758	,000	9,2433	13,0292		
			4,00	11,6550*	,40581	,000	9,7931	13,5169		
			5,00	11,9450*	,43718	,000	9,9853	13,9047		
			6,00	14,2675*	,32318	,000	12,1704	16,3646		
			7,00	14,2675*	,32318	,000	12,1704	16,3646		
			9,00	10,3237*	,42951	,000	8,3922	12,2553		
		9,00	1,00	-1,1137	1,06326	,954	-7,3590	5,1315		
			2,00	,6125	,39657	,805	-1,1597	2,3847		
			3,00	,8125	,38726	,542	-,9208	2,5458		
			4,00	1,3313	,37453	,128	-,3546	3,0171		
			5,00	1,6212	,40832	,082	-,2043	3,4468		
			6,00	3,9437*	,28291	,006	2,1080	5,7795		
			7,00	3,9437*	,28291	,006	2,1080	5,7795		
			8,00	-10,3237*	,42951	,000	-12,2553	-8,3922		
		Jamke 48	Games- Howell	1,00	2,00	1,7187	1,06188	,768	-4,2645	7,7020
					3,00	1,9906	1,06904	,664	-3,9495	7,9307
					4,00	2,3300	1,08899	,546	-3,5114	8,1714
					5,00	2,8756	1,05250	,359	-3,1711	8,9223
					6,00	5,0969	1,00495	,096	-1,4241	11,6178
					7,00	5,0969	1,00495	,096	-1,4241	11,6178
					8,00	-9,2962*	1,03434	,014	-15,4910	-3,1015
9,00	1,8562				1,13363	,761	-3,8574	7,5699		
2,00	1,00				-1,7187	1,06188	,768	-7,7020	4,2645	

			3,00	,2719	,50059	,999	-1,9680	2,5117
			4,00	,6113	,54189	,947	-1,8454	3,0679
			5,00	1,1569	,46421	,377	-,9238	3,2376
			6,00	3,3781*	,34302	,015	1,1523	5,6040
			7,00	3,3781*	,34302	,015	1,1523	5,6040
			8,00	-11,0150*	,42142	,000	-12,9726	-9,0574
			9,00	,1375	,62678	1,000	-2,8336	3,1086
		3,00	1,00	-1,9906	1,06904	,664	-7,9307	3,9495
			2,00	-,2719	,50059	,999	-2,5117	1,9680
			4,00	,3394	,55579	,999	-2,1619	2,8406
			5,00	,8850	,48037	,665	-1,2797	3,0497
			6,00	3,1063*	,36459	,023	,7405	5,4720
			7,00	3,1063*	,36459	,023	,7405	5,4720
			8,00	-11,2869*	,43915	,000	-13,3552	-9,2186
			9,00	-,1344	,63884	1,000	-3,1192	2,8505
		4,00	1,00	-2,3300	1,08899	,546	-8,1714	3,5114
			2,00	-,6113	,54189	,947	-3,0679	1,8454
			3,00	-,3394	,55579	,999	-2,8406	2,1619
			5,00	,5456	,52327	,964	-1,8635	2,9548
			6,00	2,7669*	,41950	,048	,0448	5,4890
			7,00	2,7669*	,41950	,048	,0448	5,4890
			8,00	-11,6262*	,48571	,000	-13,9987	-9,2538
			9,00	-,4738	,67170	,996	-3,5288	2,5813
		5,00	1,00	-2,8756	1,05250	,359	-8,9223	3,1711
			2,00	-1,1569	,46421	,377	-3,2376	,9238
			3,00	-,8850	,48037	,665	-3,0497	1,2797
			4,00	-,5456	,52327	,964	-2,9548	1,8635
			6,00	2,2213*	,31277	,039	,1917	4,2508
			7,00	2,2213*	,31277	,039	,1917	4,2508
			8,00	-12,1719*	,39719	,000	-13,9846	-10,3591
			9,00	-1,0194	,61075	,747	-3,9851	1,9463
		6,00	1,00	-5,0969	1,00495	,096	-11,6178	1,4241
			2,00	-3,3781*	,34302	,015	-5,6040	-1,1523
			3,00	-3,1063*	,36459	,023	-5,4720	-,7405
			4,00	-2,7669*	,41950	,048	-5,4890	-,0448
			5,00	-2,2213*	,31277	,039	-4,2508	-,1917
			7,00	,0000	,00000	.	,0000	,0000
			8,00	-14,3931*	,24480	,000	-15,9816	-12,8046

		9,00	-3,2406	,52459	,057	-6,6446	,1633
	7,00	1,00	-5,0969	1,00495	,096	-11,6178	1,4241
		2,00	-3,3781*	,34302	,015	-5,6040	-1,1523
		3,00	-3,1063*	,36459	,023	-5,4720	-,7405
		4,00	-2,7669*	,41950	,048	-5,4890	-,0448
		5,00	-2,2213*	,31277	,039	-4,2508	-,1917
		6,00	,0000	,00000	.	,0000	,0000
		8,00	-14,3931*	,24480	,000	-15,9816	-12,8046
		9,00	-3,2406	,52459	,057	-6,6446	,1633
		8,00	1,00	9,2962*	1,03434	,014	3,1015
	2,00		11,0150*	,42142	,000	9,0574	12,9726
	3,00		11,2869*	,43915	,000	9,2186	13,3552
	4,00		11,6262*	,48571	,000	9,2538	13,9987
	5,00		12,1719*	,39719	,000	10,3591	13,9846
	6,00		14,3931*	,24480	,000	12,8046	15,9816
	7,00		14,3931*	,24480	,000	12,8046	15,9816
	9,00		11,1525*	,57890	,000	8,1405	14,1645
	9,00		1,00	-1,8562	1,13363	,761	-7,5699
		2,00	-,1375	,62678	1,000	-3,1086	2,8336
		3,00	,1344	,63884	1,000	-2,8505	3,1192
		4,00	,4738	,67170	,996	-2,5813	3,5288
		5,00	1,0194	,61075	,747	-1,9463	3,9851
		6,00	3,2406	,52459	,057	-,1633	6,6446
		7,00	3,2406	,52459	,057	-,1633	6,6446
		8,00	-11,1525*	,57890	,000	-14,1645	-8,1405

**Lampiran 9.2 Uji daya hambat pada bakteri *A.actinomycetemcomitans* berdasarkan waktu paparan**

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		F1	F2	F3	F4	F5	K1	K2	K3	K4
N		16	16	16	16	16	16	16	16	16
Normal Parameters <sup>ab</sup>	Mean	10,7214	9,3898	8,9588	8,4864	8,0306	6,0000	6,0000	22,1408	8,9623
	Std. Deviation	1,50610	,84914	,78248	,68030	,57589	,00000 <sup>c</sup>	,00000 <sup>c</sup>	2,19861	1,16186
Most Extreme Differences	Absolute	,281	,253	,168	,212	,189			,336	,154
	Positive	,281	,253	,168	,142	,189			,181	,154
	Negative	-,127	-,125	-,137	-,212	-,158			-,336	-,084
Kolmogorov-Smirnov Z		1,124	1,012	,670	,848	,755			1,344	,616
Asymp. Sig. (2-tailed)		,160	,257	,760	,469	,618			,054	,843

**Multivariate Tests<sup>a</sup>**

Effect		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
Waktu	Pillai's Trace	1,874	1,901	21,000	24,000	,065
	Wilks' Lambda	,008	3,738	21,000	17,779	,003
	Hotelling's Trace	31,576	7,017	21,000	14,000	,000
	Roy's Largest Root	28,904	33,034 <sup>c</sup>	7,000	8,000	,000

**Test of Homogeneity of Variances**

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
F1	1,769	3	12	,207
F2	2,325	3	12	,127
F3	2,076	3	12	,157
F4	1,841	3	12	,193
F5	1,354	3	12	,304
K1	.	3	.	.
K2	.	3	.	.
K3	1,996	3	12	,168
K4	2,827	3	12	,084

**Tests of Between-Subjects Effects**

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Jam	F1	3,867	3	1,289	,513	,681
	F2	2,669	3	,890	1,311	,316
	F3	,983	3	,328	,480	,702
	F4	,809	3	,270	,528	,672
	F5	1,023	3	,341	1,035	,412
	K1	,000	3	,000	.	.
	K2	,000	3	,000	.	.
	K3	48,271	3	16,090	7,966	,003
	K4	10,411	3	3,470	4,233	,029

Multiple Comparisons

Dependent Variable	(I) Jam	(J) Jam	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
F1	jam ke-12	jam ke-24	,9588	1,12098	1,000	-2,5753	4,4928
		jam ke-36	-,2125	1,12098	1,000	-3,7466	3,3216
		jam ke-48	-,2519	1,12098	1,000	-3,7860	3,2822
	jam ke-24	jam ke-12	-,9588	1,12098	1,000	-4,4928	2,5753
		jam ke-36	-1,1712	1,12098	1,000	-4,7053	2,3628
		jam ke-48	-1,2106	1,12098	1,000	-4,7447	2,3235
	jam ke-36	jam ke-12	,2125	1,12098	1,000	-3,3216	3,7466
		jam ke-24	1,1712	1,12098	1,000	-2,3628	4,7053
		jam ke-48	-,0394	1,12098	1,000	-3,5735	3,4947
	jam ke-48	jam ke-12	,2519	1,12098	1,000	-3,2822	3,7860
		jam ke-24	1,2106	1,12098	1,000	-2,3235	4,7447
		jam ke-36	,0394	1,12098	1,000	-3,4947	3,5735
F2	jam ke-12	jam ke-24	1,1500	,58261	,431	-,6868	2,9868
		jam ke-36	,6688	,58261	1,000	-1,1680	2,5055
		jam ke-48	,6219	,58261	1,000	-1,2149	2,4587
	jam ke-24	jam ke-12	-1,1500	,58261	,431	-2,9868	,6868
		jam ke-36	-,4812	,58261	1,000	-2,3180	1,3555
		jam ke-48	-,5281	,58261	1,000	-2,3649	1,3087
	jam ke-36	jam ke-12	-,6688	,58261	1,000	-2,5055	1,1680
		jam ke-24	,4812	,58261	1,000	-1,3555	2,3180
		jam ke-48	-,0469	,58261	1,000	-1,8837	1,7899
	jam ke-48	jam ke-12	-,6219	,58261	1,000	-2,4587	1,2149
		jam ke-24	,5281	,58261	1,000	-1,3087	2,3649
		jam ke-36	,0469	,58261	1,000	-1,7899	1,8837
F3	jam ke-12	jam ke-24	,5350	,58456	1,000	-1,3079	2,3779
		jam ke-36	-,0650	,58456	1,000	-1,9079	1,7779
		jam ke-48	-,0400	,58456	1,000	-1,8829	1,8029
	jam ke-24	jam ke-12	-,5350	,58456	1,000	-2,3779	1,3079
		jam ke-36	-,6000	,58456	1,000	-2,4429	1,2429
		jam ke-48	-,5750	,58456	1,000	-2,4179	1,2679
	jam ke-36	jam ke-12	,0650	,58456	1,000	-1,7779	1,9079
		jam ke-24	,6000	,58456	1,000	-1,2429	2,4429
		jam ke-48	,0250	,58456	1,000	-1,8179	1,8679
	jam ke-48	jam ke-12	,0400	,58456	1,000	-1,8029	1,8829
		jam ke-24	,5750	,58456	1,000	-1,2679	2,4179
		jam ke-36	-,0250	,58456	1,000	-1,8679	1,8179
F4	jam ke-12	jam ke-24	,2237	,50551	1,000	-1,3700	1,8175
		jam ke-36	-,2175	,50551	1,000	-1,8112	1,3762

			jam ke-48	-,3719	,50551	1,000	-1,9656	1,2219
		jam ke-24	jam ke-12	-,2237	,50551	1,000	-1,8175	1,3700
			jam ke-36	-,4412	,50551	1,000	-2,0350	1,1525
			jam ke-48	-,5956	,50551	1,000	-2,1894	,9981
		jam ke-36	jam ke-12	,2175	,50551	1,000	-1,3762	1,8112
			jam ke-24	,4412	,50551	1,000	-1,1525	2,0350
			jam ke-48	-,1544	,50551	1,000	-1,7481	1,4394
		jam ke-48	jam ke-12	,3719	,50551	1,000	-1,2219	1,9656
			jam ke-24	,5956	,50551	1,000	-,9981	2,1894
			jam ke-36	,1544	,50551	1,000	-1,4394	1,7481
F5	Bonferroni	jam ke-12	jam ke-24	,1887	,40578	1,000	-1,0906	1,4681
			jam ke-36	-,4387	,40578	1,000	-1,7181	,8406
			jam ke-48	-,3375	,40578	1,000	-1,6168	,9418
		jam ke-24	jam ke-12	-,1887	,40578	1,000	-1,4681	1,0906
			jam ke-36	-,6275	,40578	,888	-1,9068	,6518
			jam ke-48	-,5263	,40578	1,000	-1,8056	,7531
		jam ke-36	jam ke-12	,4387	,40578	1,000	-,8406	1,7181
			jam ke-24	,6275	,40578	,888	-,6518	1,9068
			jam ke-48	,1012	,40578	1,000	-1,1781	1,3806
		jam ke-48	jam ke-12	,3375	,40578	1,000	-,9418	1,6168
			jam ke-24	,5263	,40578	1,000	-,7531	1,8056
			jam ke-36	-,1012	,40578	1,000	-1,3806	1,1781
K3	Bonferroni	jam ke-12	jam ke-24	-4,0850*	1,00493	,009	-7,2532	-,9168
			jam ke-36	-3,9338*	1,00493	,012	-7,1020	-,7655
			jam ke-48	-4,0094*	1,00493	,011	-7,1776	-,8412
		jam ke-24	jam ke-12	4,0850*	1,00493	,009	,9168	7,2532
			jam ke-36	,1512	1,00493	1,000	-3,0170	3,3195
			jam ke-48	,0756	1,00493	1,000	-3,0926	3,2438
		jam ke-36	jam ke-12	3,9338*	1,00493	,012	,7655	7,1020
			jam ke-24	-,1512	1,00493	1,000	-3,3195	3,0170
			jam ke-48	-,0756	1,00493	1,000	-3,2438	3,0926
		jam ke-48	jam ke-12	4,0094*	1,00493	,011	,8412	7,1776
			jam ke-24	-,0756	1,00493	1,000	-3,2438	3,0926
			jam ke-36	,0756	1,00493	1,000	-3,0926	3,2438
K4	Bonferroni	jam ke-12	jam ke-24	1,2400	,64023	,460	-,7784	3,2584
			jam ke-36	-,9912	,64023	,885	-3,0097	1,0272
			jam ke-48	-,2881	,64023	1,000	-2,3066	1,7303
		jam ke-24	jam ke-12	-1,2400	,64023	,460	-3,2584	,7784
			jam ke-36	-2,2312*	,64023	,027	-4,2497	-,2128
			jam ke-48	-1,5281	,64023	,206	-3,5466	,4903
		jam ke-36	jam ke-12	,9912	,64023	,885	-1,0272	3,0097
			jam ke-24	2,2312*	,64023	,027	,2128	4,2497

		jam ke-48	,7031	,64023	1,000	-1,3153	2,7216
		jam ke-12	,2881	,64023	1,000	-1,7303	2,3066
	jam ke-48	jam ke-24	1,5281	,64023	,206	-,4903	3,5466
		jam ke-36	-,7031	,64023	1,000	-2,7216	1,3153

